

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1924

THÈSE

N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

PAR

Émile RIVALIER

Né le 2 décembre 1892, à Luzillé (Indre-et-Loire)
Ancien Interne des Hôpitaux de Paris

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES

SUR

L'INFECTION ET L'IMMUNISATION

PAR LA VOIE CUTANÉE

ÉTUDE CRITIQUE DE L'IMMUNITÉ LOCALE

Travail de la Clinique des Maladies Infectieuses (Hôpital Claude Bernard)

Président : M. TEISSIER, professeur

PARIS

LIBRAIRIE LOUIS ARNETTE

2, RUE CASIMIR-DELAVIGNE

1924

I. — PROFESSEURS

	MM.
Anatomie.....	NICOLAS.
Anatomie médico-chirurgicale.....	CUNÉO.
Physiologie.....	Ch. RICHET.
Physique médicale.....	André BROCA.
Chimie organique et chimie générale.....	DESGREZ.
Bactériologie.....	BEZANÇON.
Parasitologie et histoire naturelle médicale.....	BRUMPT.
Pathologie et thérapeutique générales.....	Marcel LABBÉ.
Pathologie médicale.....	SICARD.
Pathologie chirurgicale.....	LECÈNE.
Anatomie pathologique.....	LETULLE.
Histologie.....	PRENANT.
Pharmacologie et matière médicale.....	RICHAUD.
Thérapeutique.....	CARNOT.
Hygiène.....	Léon BERNARD.
Médecine légale.....	BALTHAZARD.
Histoire de la médecine et de la chirurgie.....	MÉNÉTRIÉR.
Pathologie expérimentale et comparée.....	ROGER.
	GILBERT.
Clinique médicale.....	CHAUFFARD.
	ACHARD.
	WIDAL.
Hygiène et clinique de la première enfance.....	MARFAN.
Clinique des maladies des enfants.....	NOBÉCOURT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale.....	H. CLAUDE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.....	JEANSELME.
Clinique des maladies du système nerveux.....	GUILLAIN.
Clinique des maladies infectieuses.....	TEJSSIER.
	DELBET.
Clinique chirurgicale.....	HARTMANN.
	LEJARS.
	GOSSET.
Clinique ophtalmologique.....	De LAPERSONNE.
Clinique urologique.....	LEGUEU.
	COUVELAIRE.
Clinique d'accouchements.....	BRINDEAU.
	JEANNIN.
Clinique gynécologique.....	J.-L. FAURE.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie.....	BROCA Auguste
Clinique thérapeutique médicale.....	VAQUEZ.
Clinique oto-rhino-laryngologique.....	SEBILEAU.
Clinique thérapeutique chirurgicale.....	DUVAL.
Clinique propédeutique.....	SERGEANT.

II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.

ABRAMI.....	Pathologie médicale
ALGLAVE.....	Pathologie chirurgicale.
AUBERTIN....	Pathologie médicale.
BASSET.....	Pathologie chirurgicale.
BAUDOUIN....	Pathologie médicale.
BINET.....	Physiologie.
BLANCHETIÈRE	Chimie biologique.
BRANCA.....	Histologie
BRULÉ.....	Pathologie médicale.
BUSQUET.....	Pharmacologie et ma- tière médicale.
CADENAT.....	Pathologie chirurgicale.
CHAMPY.....	Histologie.
CHIRAY.....	Pathologie médicale.
CLERC.....	Pathologie médicale.
DEBRÉ.....	Hygiène.
I. de JONG....	Anatomie pathologique.
DUVOIR.....	Médecine légale.
ÉCALLE.....	Obstétrique.
FIESSINGER...	Pathologie médicale.
FOIX.....	Pathologie médicale.
GARNIER.....	Pathologie expériment ^{le} .
HARVIER.....	Pathologie médicale.
HEITZ-BOYER..	Urologie.
HOVELACQUE..	Anatomie.
JOYEUX.....	Parasitologie.

MM.

LABBÉ (Henri).	Chimie biologique.
LARDENNOIS..	Pathologie chirurgicale.
LE LORIER....	Obstétrique.
LEMAITRE....	Oto-rhino-laryngologie.
LEMIERRE....	Pathologie médicale.
LÉVY-SOLAL...	Obstétrique.
LHERMITTE...	Pathologie mentale.
LIAN.....	Pathologie médicale.
MATHIEU.....	Pathologie chirurgicale.
METZGER.....	Obstétrique.
MCCQUOT.....	Pathologie chirurgicale.
MONDOR.....	Pathologie chirurgicale.
MOURE.....	Pathologie chirurgicale.
MULON.....	Histologie.
PHILIBERT....	Bactériologie.
RIBIERRE....	Pathologie médicale.
RICHER Fils...	Physiol gie.
ROUVIÈRE....	Anatomie.
STROHL.....	Physique médicale.
TANON.....	Pathologie médicale.
TIFFEN AU...	Pharmacologie et ma- tière médicale.
VAUDESCAL...	Obstétrique.
VERNE.....	Histologie.
VILLARET....	Pathologie médicale.
WELTER.....	Ophthalmologie.

III. — AGREGES RAPPELES A L'EXERCICE

pour le service des examens

MM.

CAMUS.....	Physiologie.
GOUCEROT....	Pathologie médicale.
CUÉNIOT.....	Obstétrique.

MM.

RETERER.....	Histologie.
ROUSSY.....	Anatomie pathologique.

IV. — AGREGES CHARGES DE COURS DE CLINIQUE

à titre permanent

MM.	
AUVRAY.....	Clinique chirurgicale.
CHEVASSU	Clinique chirurgicale.
LAIGNEL-LAVASTINE	Clinique médicale.
LEREBOULLET.	Clinique médicale infan- tile.
LÉRI.....	Clinique médicale.
LÉPER.....	Clinique médicale.

MM.	
OMBREDANNE.	Clinique chirurgicale in- fantile.
PROUST	Clinique chirurgicale.
RATHERY.....	Clinique médicale.
SCHWARTZ ...	Clinique chirurgicale.
TERRIEN.....	Cliniq. ophtalmologique.

V. — CHARGÉS DE COURS

MM MAUCLAIRE, agrégé.....	{ Chargé du cours de chirurgie orthopédique chez l'adulte pour les accidentés du travail, les mutilés de guerre et les infirmes adultes.
FREY.....	
N.....	Stomatologie.
LEDoux-LEBARD.....	Éducation physique.
	Radiologie clinique.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'École a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MON PÈRE

LE DOCTEUR A. RIVALIER

A MON MAÎTRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR PIERRE TEISSIER

Professeur de clinique des maladies infectieuses
Membre de l'Académie de médecine

*Hommage de ma reconnaissance
et de mon respectueux attachement.*



A MES MAITRES DANS LES HOPITAUX

1911 M. le Professeur RÉNON (*in memoriam*).

Externat

1912-1913 M. le Docteur LAUNAY.

1913-1914 M. le Docteur HIRTZ (*in memoriam*).

1919-1920 M. le Professeur MARCEL LABBÉ.

Internat

1920-1921 M. le Docteur RICHARDIÈRE.

M. le Docteur AVIRAGNET.

1921-1922 M. le Professeur P. TEISSIER.

1922-1923 M. le Docteur MILIAN.

1923-1924 M. le Docteur BABONNEIX.

M. le Professeur agrégé LEMIERRE.

1924 M. le Docteur MILIAN.

A M. le Professeur H. CLAUDE

A MM. TANON, CH. RICHT fils, professeurs agrégés.

A MM. BENSAUDE, LEMAIRE, STÉVENIN,
FLANDIN, MATHIEU P. WEIL,
médecins des hôpitaux.

A M. BERGERET, chirurgien des hôpitaux.

A MM. les D^{rs} L. BRIN, PASCALIS, J. ROLLAND,
MOREAU, GASTINEL, KINDBERG,
SAUPHAR.

AU DOCTEUR J. REILLY

Chef du laboratoire de l'hôpital Claude-Bernard

*Témoignage de ma gratitude
et de mon amitié.*



AVANT-PROPOS

L'étude de l'immunité, de sa nature, de ses causes et de son mécanisme est un des problèmes de la biologie auquel ont été consacrés les plus nombreux travaux ; l'intérêt pratique lié à leur connaissance exacte, et aussi l'intérêt spéculatif qui en est étroitement solidaire expliquent aisément l'activité de tant de chercheurs attachés à une question si importante et encore si pleine d'incertitude.

Bien que l'immunité naturelle et l'immunité acquise vis-à-vis des maladies infectieuses fussent connues depuis longtemps, leur nature intime restait ignorée, et il faut arriver à la découverte de la phagocytose par Metchnikoff (1883) pour que se fasse jour une conception de l'immunité reposant sur des bases scientifiques solides. L'immunité antimicrobienne apparaissait dès lors comme une fonction cellulaire dévolue essentiellement à la cellule mobile de l'organisme, au leucocyte.

Peu de temps après la découverte de Metchnikoff, divers auteurs, parmi lesquels il convient de citer surtout Nuttal et Buchner, puis Behring et Kitasato, mettaient en évidence les propriétés défensives des humeurs et l'existence des antitoxines. L'histoire de l'immunité entraînait, de

ce fait, dans une nouvelle phase et les travaux se concentraient sur les propriétés humorales des animaux immunisés et sur la recherche des anticorps.

Pendant longtemps la lutte se poursuivait entre la théorie phagocytaire et la théorie humorale de l'immunité. Cette lutte finit par aboutir à un compromis et il fut en général admis que les deux mécanismes coexistaient habituellement pour assurer la protection de l'organisme, le mécanisme humoral tenant toutefois, au moins dans l'immunité acquise, le premier rôle. Il n'est pas d'ailleurs jusqu'à l'immunité naturelle qui ne semblât relever, elle aussi, dans une large part d'un mécanisme humoral bien que chez un animal naturellement réfractaire contre une infection aucun anticorps spécifique ne fût décelable.

C'est dans ces toutes dernières années seulement que l'étude de l'immunité s'est orientée dans une voie nouvelle. D'une part, l'étude des virus filtrants a conduit à reconnaître l'affinité élective de ces agents pathogènes pour certains tissus à l'exclusion des autres ; ainsi a été constitué le groupe des épithélioses de Borrel devenu plus récemment le groupe des ectodermoses de Levaditi. Vis-à-vis de ces infections, il suffit, pour que l'organisme soit protégé, d'une immunité intéressant les tissus sensibles ; or l'expérience montre précisément que l'immunité acquise contre elles peut ne pas s'accompagner de la présence d'anticorps dans les humeurs : elle paraît être une immunité tissulaire localisée aux tissus réceptifs et non pas une immunité humorale.

A la même conception de l'immunité aboutit dans un

autre ordre de recherches M. Besredka qui, se basant sur l'entérotropisme de certains germes, montre la possibilité de vacciner l'organisme contre eux par la voie intestinale sans déterminer l'apparition d'anticorps dans les humeurs. La théorie de l'immunité tissulaire se trouve ainsi prendre une portée très générale et tend à s'élargir de plus en plus.

Si l'on voulait schématiser rapidement l'évolution des doctrines de l'immunité, on pourrait dire que le rôle prépondérant, attribué d'abord à la cellule, puis aux humeurs, tend de nouveau à revenir à la cellule, mais que la nouvelle doctrine, au lieu de faire intervenir la cellule mobile, le phagocyte, attribue le rôle défensif principal à l'élément fixe des tissus.

Bien que la dernière venue de ces conceptions repose sur certains faits expérimentaux indiscutables et que d'ailleurs elle ne prétende pas faire table rase des précédentes, il y a lieu de se demander si toutes les applications qu'ont fait d'elle ses protagonistes sont pleinement justifiées. Ce n'est pas que la « doctrine tissulaire » comprise dans le sens d'état réfractaire de tous les tissus sensibles ne puisse revendiquer sa part dans certaines immunités dont la doctrine humorale semblait jusqu'à présent parfaitement rendre compte ; mais il en va autrement de la conception tissulaire envisagée dans le sens restreint d'immunité locale d'un seul tissu.

Il semble en effet, d'une part, que la notion d'affinité tissulaire spécifique ait été étendue à des germes qui ne la méritent pas ; d'autre part, que certaines immunités obtenues par la mise en contact avec un vaccin

d'un tissu donné aient été, sans preuves suffisantes, qualifiées d'immunités locales.

Tels sont les deux points que, dans le domaine de l'infection et de la vaccination par voie cutanée, cherche à mettre en évidence le présent travail. Il a pour origine l'étude d'une infection pasteurellienne dont les résultats ont été antérieurement publiés (1), et la comparaison d'une partie de ces résultats avec ceux que M. Besredka (2) avait obtenus peu auparavant en étudiant l'infection charbonneuse et l'immunisation par la voie cutanée. Il se peut que mainte interprétation paraisse fragile et que les arguments avancés semblent parfois insuffisants pour entraîner la conviction. Je m'estimerai heureux si les expériences relatées au cours de cet exposé ne demeurent pas complètement vaines.

1. P. Teissier, Gastinel, Reilly et Rivalier, *Contribution à l'étude des pasteurelloses à propos d'un cas de pasteurellose humaine* (*Journal de physiologie et de pathologie générale*, 1922, t. XX, n° 2).

2. A. Besredka, *Vaccination par voie cutanée ; Charbon, Cuti-infection. Cuti-vaccination. Cuti-immunité* (*Annales de l'Institut Pasteur*, 1921, t. XXXV, n° 7, p. 421).

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES
SUR
L'INFECTION ET L'IMMUNISATION
PAR LA VOIE CUTANÉE
Étude critique de l'Immunité locale

DIVISION DU SUJET

Une étude méthodique de l'infection expérimentale de la peau et de l'immunisation par voie cutanée ne saurait se cantonner à un seul microbe ; elle devrait comprendre le plus grand nombre possible de virus pathogènes connus. On conçoit qu'en présence des difficultés matérielles s'opposant à des recherches aussi étendues, il soit nécessaire de faire un choix parmi les espèces microbiennes se prêtant à l'expérimentation.

En ayant soin de s'adresser à des germes divers dont chacun soit en quelque sorte représentatif d'un groupe bactérien on peut espérer obtenir des résultats applicables dans chaque cas à un nombre plus ou moins grand d'espèces microbiennes et dont la comparaison permettra une vue d'ensemble sur la question. C'est donc le souci, non des analogies, mais des dissemblances, qui doit guider le choix des agents infectieux à étudier parmi le grand nombre de ceux qui se prêtent à semblables recherches. C'est pourquoi on trouvera dans les

différents chapitres qui suivent des expériences analogues pratiquées avec des germes microbiens fort éloignés les uns des autres, et il s'en faut encore de beaucoup — je m'empresse de le reconnaître — que tous les groupes pathogènes soient représentés dans ce travail.

Une *pasteurella* a été prise comme type de germe à caractère septicémique mais capable en outre de susciter aisément des réactions d'immunité.

Le *streptocoque* a été choisi ensuite en tant que microbe sans affinité spécifique lui aussi, mais incapable, dans l'infection expérimentale du lapin tout au moins, de déterminer un état réfractaire ultérieur solide et durable.

Quelques expériences ont été consacrées au *bacille diphtérique* pris comme type de germe doué d'un haut pouvoir toxique.

Deux autres germes ont été étudiés, l'un en raison de son affinité spécifique pour un organe différent de la peau (intestin dans le cas particulier), c'est le *bacille paratyphique B* ; l'autre, au contraire, en raison même de son tropisme cutané à peu près exclusif, c'est le *bacille de Ducrey*.

Enfin une place importante est réservée à la *bactéridie charbonneuse* en raison des travaux consacrés par plusieurs auteurs à ce microbe et qui servent de base à la doctrine de l'immunité locale. Les expériences qui seront relatées dans ce chapitre concernent surtout le mécanisme de l'infection charbonneuse et serviront à discuter les affinités tissulaires de la bactéridie sur les-

quelles seules peut reposer le mécanisme tissulaire de l'immunité.

Les expériences concernant les autres germes ayant toutes été conçues dans le même sens, on trouvera dans chacun des divers chapitres les mêmes recherches qui peuvent se ramener au schéma d'ensemble suivant :

1° Etude de l'infection locale et de l'infection générale consécutives à l'inoculation cutanée ;

2° Essais de vaccination par inoculations cutanées successives de germes virulents. Recherche de l'immunité locale et de l'immunité générale ;

3° Essais de vaccination par voie cutanée à l'aide de cultures tuées ;

4° Etude des modifications de la réceptivité cutanée consécutives à l'immunisation par voie générale ;

5° Comparaison entre l'immunité obtenue par voie générale et l'immunité obtenue par voie cutanée.

Les premières expériences ayant montré que dans les réactions de la peau vis-à-vis des agents infectieux les plus divers, interviennent des facteurs communs dépendant du tissu lui-même et non du microbe, il est nécessaire, avant d'envisager diverses infections, d'étudier les conditions générales de réceptivité de la peau. C'est à elles que sera consacré le premier chapitre.

CHAPITRE PREMIER

CONDITIONS GÉNÉRALES DE RÉCEPTIVITÉ DE LA PEAU VIS-A-VIS DES INFECTIONS CHEZ LE LAPIN ET LE COBAYE

Si l'on vient à appliquer sur la peau fraîchement épilée d'un lapin une culture virulente de streptocoques, on voit apparaître dès le lendemain une réaction locale particulière sur la surface de peau inoculée ; cette zone est rouge, chaude, saillante, œdémateuse et la palpation la révèle profondément infiltrée. L'examen attentif y montre dans la majorité des cas la présence de pustulettes miliaires pleines d'un liquide louche, dont l'ensemencement permet de retrouver facilement le streptocoque et souvent même à l'état de pureté. Dans les vingt-quatre heures qui suivent, la rougeur augmente encore, mais la réaction demeure toujours limitée au territoire cutané dégarni de ses poils.

L'existence des vésicules est très éphémère : celles-ci se rompent très tôt et leur contenu, se joignant à la desquamation cutanée, forme rapidement des croûtes jaunâtres ordinairement constituées au bout de quarante-huit heures et qui laissent voir, lorsqu'on les soulève, une surface érodée et suintante. La réparation de toutes ces lésions s'effectue assez rapidement : les

croûtes tombent et les érosions s'effacent sans laisser de cicatrices, mais il persiste presque toujours une infiltration notable du tégument qui s'atténue lentement dans les jours qui suivent.

Une semblable réaction n'est ni banale, ni particulière au streptocoque. Ce n'est pas un phénomène banal, car avec un saprophyte vulgaire, une culture de staphylocoque blanc de la peau par exemple, il n'est pas possible de la produire. D'ailleurs l'intensité des réactions inflammatoires peut varier beaucoup suivant l'échantillon microbien étudié ; nous verrons ultérieurement qu'avec certains streptocoques, la réaction s'exalte au point de devenir ecchymotique ou escarrotique, tandis qu'avec d'autres elle se dégrade, devient une simple rougeur diffuse ou même fait complètement défaut.

D'autre part il est possible, tant chez le lapin que chez le cobaye, de déterminer des réactions cutanées tout à fait comparables avec des germes fort variés et auxquels on ne saurait accorder une affinité particulière pour la peau. C'est ainsi que j'ai pu, chez le lapin, avec trois souches de méningocoques A et B récemment isolées du pus d'une méningite, provoquer sur la peau des réactions inflammatoires d'aspect érysipélateux ; que la *pasteurella* étudiée plus loin déterminait chez le cobaye une réaction cutanée érythémateuse et vésicopustuleuse. Chez le même animal, une souche de staphylocoques, parmi de nombreuses souches inactives, a produit une réaction rouge et œdémateuse avec semis de pustulettes miliaires. Le paratyphique B appliqué dans les mêmes conditions m'a permis de déterminer deux fois

sur trois soit une réaction simplement érythémateuse, soit une vive rougeur inflammatoire avec vésico-pustules.

On sait que la bactériémie charbonneuse engendre constamment sur la peau du cobaye une réaction inflammatoire rouge et œdémateuse, prélude d'une septicémie. Enfin le bacille diphtérique est capable de produire, lui aussi, des lésions cutanées mais qui prennent rapidement un type escarrotique particulier. Il est probable qu'avec beaucoup d'autres germes encore, des phénomènes analogues pourraient être observés.

Mais laissant pour l'instant l'étude de l'affinité des germes pour la peau nous envisagerons seulement le mode d'inoculation et les conditions de réceptivité du tégument qui sont d'une grande importance pour l'interprétation des résultats obtenus.

* * *

Le mode d'inoculation des cultures microbiennes sur la surface cutanée est des plus simples. Il semble qu'on puisse employer aussi bien une culture jeune en milieu liquide qu'une émulsion des germes dans du sérum physiologique, et il suffit d'appliquer la culture sur la peau, préparée comme il sera dit plus loin, soit à l'aide d'un tampon de coton imbibé qui séjournera quelques instants, soit à l'aide d'un écouvillon qui servira à badigeonner toute la surface dénudée. Il n'y a aucun avantage, bien au contraire, à incorporer les germes à un excipient quelconque : des accidents d'expérimentation l'on démontré.

Dans l'espoir, en effet, de rendre plus sévère l'inoculation du streptocoque au lapin, j'ai incorporé à de l'axonge des streptocoques recueillis par centrifugation d'une culture en bouillon ascite : la pommade virulente ainsi confectionnée fut appliquée sur la peau de 12 lapins en cours d'étude expérimentale ; or contrairement à toutes les inoculations faites avec la même souche microbienne, deux animaux seulement présentèrent une réaction inflammatoire nette ; sur les dix autres la réaction locale fut très faible, voire même complètement nulle ; par contre trois des animaux inoculés de cette façon succombèrent à une septicémie streptococcique, deux au bout de quarante-huit heures et l'autre quelques jours plus tard ; les deux premiers de ces animaux subissaient leur première ou leur seconde inoculation. Ainsi qu'on le verra plus loin, il est tout à fait exceptionnel qu'avec un streptocoque de moyenne virulence comme l'était à ce moment la souche employée, une septicémie mortelle se déclare à l'occasion des premières applications de culture. Il y a donc lieu d'incriminer dans ces cas le rôle de l'excipient choisi qui, tout en gênant la réaction cutanée locale, a d'autre part favorisé la pénétration des germes dans l'organisme.

L'échec de cette méthode d'inoculation n'est d'ailleurs pas sans intérêt : la pratique de la dermatologie apprend en effet que l'axonge est l'excipient de choix pour faire pénétrer des médicaments dans la peau ; elle enseigne d'autre part que l'axonge appliquée sur une surface étendue de peau érodée et infectée, telle qu'on en voit au cours des érythrodermies exfoliantes, est une médication

dangereuse, susceptible de déclancher des accidents septicémiques, et cela, moins sans doute par les germes qu'elle peut contenir, que par ceux qui pullulent sur le tégument et dont elle favorise la pénétration dans la profondeur. Ces faits d'observation clinique s'accordent donc pleinement avec les faits expérimentaux.

L'utilisation d'un autre excipient tel que l'empois d'amidon pour l'application des germes sur la peau n'a pas les inconvénients de l'axonge, mais elle n'a aucun avantage et gêne l'observation des lésions cutanées : il vaut donc mieux s'en tenir à la technique plus facile du simple badigeonnage sur la peau.

* * *

La préparation de la peau est aussi simple : l'épilation à la main suivie d'un rasage tout superficiel suffisent. Les scarifications sont inutiles ou nuisibles et le rasage lui-même, s'il est pratiqué sans précautions, détermine des lésions traumatiques qui gênent l'interprétation des réactions inflammatoires. La seule épilation faite avec soin est suffisante et permet d'observer les phénomènes locaux dans toute leur pureté. Une seule condition s'impose : c'est d'effectuer cette épilation très peu de temps avant l'application de la culture. Faute de cette précaution, les résultats des expériences ne sont plus valables ; des phénomènes d'ordre mécanique, peut-être même biologique, interviennent et faussent toute interprétation ; ce sont eux qui vont nous retenir longtemps.

ÉTAT NON RÉCEPTIF DE LA PEAU ÉPILÉE PLUSIEURS
JOURS AVANT L'INOCULATION

Au début des recherches effectuées sur l'infection streptococcique cutanée du lapin, dix animaux furent mis à l'étude et inoculés par voie cutanée, dans le but de mettre en évidence des réactions d'immunité locale ou générale. La première question qui se posait était celle de l'existence d'une immunité locale segmentaire, circonscrite au territoire inoculé une première fois. A cette question il semblait que l'expérience dût pouvoir donner une réponse rapide.

Pratiquée sur un lot de 10 animaux, elle montra en effet que toute zone cutanée inoculée une première fois avec succès est devenue complètement réfractaire à une nouvelle inoculation d'épreuve faite après guérison complète, bien que la virulence de la culture soit identique, ainsi que le montre la réceptivité d'une zone de peau voisine, *et bien que la peau soit de nouveau soigneusement rasée et même érodée sans ménagements*. Voici le protocole type d'une de ces expériences:

Lapin 28. — Inoculé le 19 avril 1923 avec une culture de streptocoque M (méningite) sur le flanc droit épilé et rasé. Réaction légère le lendemain, très accusée le surlendemain avec rougeur et vésico-pustules ; la réaction s'étend encore le troisième jour mais sans dépasser le territoire épilé, formant une large plaque d'aspect érysipélateux, rouge et infiltrée.

Le 26 avril, puis le 2 mai, inoculations avec la même souche respectivement sur la fesse gauche et sur le flanc gauche : réactions positives, mais de moindre intensité que la première fois.

Le 7 mai, inoculation avec la même souche sur deux territoires :

a) Flanc droit inoculé le 19 avril, et de nouveau rasé.

b) Fesse droite, non encore inoculée.

Le lendemain on observe en *b* une réaction violente avec rougeur, œdème et grosses vésico-pustules, tandis qu'en *a* la réaction est complètement nulle.

Manifeste à l'égard de la souche de streptocoques utilisée lors de la première inoculation, l'état réfractaire n'est pas moins évident lorsqu'on emploie pour la seconde inoculation une race de streptocoques différente de la première. Toute surface cutanée ayant réagi à une application de streptocoques devient ensuite insensible vis-à-vis de divers échantillons du même germe. Il y avait donc tout lieu de croire qu'il s'agissait bien d'une immunité localement acquise, mais un phénomène inattendu montra hientôt que semblable interprétation était mal fondée :

Lapin 65. — Reçoit du 9 au 21 mai 1923 trois inoculations sur des surfaces cutanées différentes, d'un streptocoque de même souche (souche M). Chaque fois la réaction est fortement positive avec rougeur, infiltration, vésico-pustules, suintement et croûtes.

Le 23 mai, inoculation sur deux zones avec une autre souche virulente (souche P).

a) Sur le flanc gauche déjà inoculé le 16 mai avec la souche M.

b) Sur le flanc droit non encore inoculé.

Le lendemain la réaction est fortement positive en *b* et nulle en *a*.

Le 6 juin, inoculation sur l'épaule gauche avec le streptocoque P et sur l'épaule droite avec une nouvelle souche de streptocoque de virulence inconnue : le lendemain, réaction très positive sur l'épaule gauche et nulle sur l'épaule droite.

Le 15 juin, inoculation de streptocoque M :

a) Sur l'épaule droite inoculée le 6 juin sans résultat avec une souche avirulente.

b) Sur une surface neuve de la région dorsale.

Ces deux zones sont pareillement rasées au moment de l'inoculation.

Le surlendemain, la réaction est *très positive en b et nulle en a*.

Ainsi, chez cet animal, une surface cutanée inoculée avec une culture avirulente s'est montrée neuf jours après complètement réfractaire vis-à-vis d'une culture virulente de streptocoques, tout comme si elle avait, lors d'une première inoculation, présenté la réaction inflammatoire caractéristique ; le phénomène était peut-être même plus net, car la peau, n'ayant subi que l'application d'une culture inoffensive, avait conservé sa couleur et sa souplesse normales, ce qui rendait plus manifeste encore le contraste entre les deux zones. Pareil fait amenait à supposer que l'état réfractaire de la peau, observé lors d'une inoculation seconde, devait être étranger à toute immunisation locale spécifique, et relevait sans doute des modifications acquises par le tégument du fait d'un traumatisme antérieur, et indépendantes de l'application d'une culture microbienne.

Il fut aisé de vérifier cette interprétation : douze lapins furent dans ce but inoculés avec une souche virulente de streptocoques sur deux plages cutanées distinctes, l'une épilée et rasée immédiatement avant l'application de la culture, l'autre épilée et rasée cinq jours auparavant, et de nouveau rasée, voire même érodée, au moment de l'inoculation. Sur la première de ces plages apparut dans tous les cas la réaction inflammatoire que nous connaissons, tandis que la seconde demeura complètement insensible. Les résultats s'étant montrés d'une parfaite concordance chez tous les animaux étudiés, il est permis de conclure que chez

le lapin la peau épilée depuis quelques jours a perdu sa réceptivité vis-à-vis du streptocoque, et cela en dépit même d'une irritation mécanique paraissant ouvrir une large porte d'entrée au germe.

Quel est le temps nécessaire pour voir apparaître cet état réfractaire non spécifique de la peau? Les expériences suivantes permettent de l'apprécier :

Lapin 85. — Application le 29 juin 1923 d'une culture virulente de streptocoques sur trois zones :

a) Région dorsale droite épilée et rasée le 27, rasée de nouveau au moment de l'inoculation;

b) Epaule droite épilée simplement le 27, rasée au moment de l'inoculation;

c) Région dorso-lombaire gauche épilée et rasée au moment de l'inoculation.

Deux jours après la réaction est positive et sensiblement égale sur les trois zones.

Lapin 12. — Application le 16 juillet 1923 d'une culture de streptocoques sur quatre zones épilées et rasées respectivement huit jours, six jours, trois jours avant l'inoculation, et la dernière au moment même de l'inoculation. Les trois premières zones sont de nouveau rasées au moment de l'application de la culture.

Le lendemain la réaction inflammatoire est complètement nulle sur les deux premières zones, faiblement positive sur la troisième et très forte sur la dernière où elle aboutit même ultérieurement à un abcès sous-cutané.

On voit que l'état réfractaire de la peau, à peine ébauché le deuxième jour, commence à se manifester au bout du troisième, mais n'est réalisé complètement qu'au bout de quatre jours au minimum. Le simple arrachement mécanique des poils est d'ailleurs suffisant pour le faire apparaître; rasage et scarifications sont complètement inutiles, sinon nuisibles par suite des lésions traumatiques qu'ils peuvent entraîner.

La durée de cet état de la peau semble fort longue : au bout de douze à quinze jours les plages cutanées antérieurement épilées sont toujours insensibles à l'inoculation ; c'est seulement au bout d'un mois au moins, quand tous les poils ont repoussé, qu'à la faveur d'une nouvelle épilation la peau peut récupérer sa réceptivité. L'expérience fut faite sur 3 des 10 lapins étudiés : les poils furent arrachés sur des zones qui un mois ou plus auparavant avaient été inoculées ou simplement épilées : l'application d'une culture de streptocoques y détermina une réaction locale positive comme sur une zone neuve.

Il semble se dégager de toutes ces expériences que la condition nécessaire et suffisante pour rendre la peau du lapin réceptive vis-à-vis du streptocoque est l'arrachement récent des poils. La blessure en masse des follicules pileux ; les érosions épidermiques mêmes multiples et profondes au point d'aller jusqu'au derme semblent tout à fait incapables de produire un pareil résultat. Pour le démontrer avec certitude il eût fallu dénuder la peau en respectant l'intégrité des follicules pileux ; malheureusement semblable expérience n'est pas réalisable ; le simple rasage est fort malaisé chez les animaux très velus : il traumatise considérablement la peau, entraîne des excoriations et probablement l'arrachement de nombreux poils, aussi voit-on dans ces conditions l'infection streptococcique se produire comme sur une peau simplement épilée.

L'épilation à l'aide de pâtes au sulfure de calcium n'est pas plus favorable, car cette méthode détermine

des réactions irritatives qui rendent impossible l'appréciation des phénomènes dus à l'infection cutanée.

Pour interpréter le mode d'action de l'arrachement des poils sur la sensibilité de la peau à l'infection et sur son insensibilité consécutive, l'hypothèse la plus simple était celle d'une porte d'entrée folliculaire indispensable à la pénétration des germes microbiens. Engendrée par l'épilation qui blesse la papille des poils, cette brèche se cicatrise au bout de quelques jours ; quelle que soit alors l'érosion superficielle, l'infection ne peut plus se produire. Partant de cette hypothèse, il y avait alors lieu de se demander si l'histologie permettrait de préciser l'existence des lésions folliculaires supposées et mettrait en évidence l'infection par cette voie. Le phénomène étant comme nous le verrons plus loin très général, et facilement observable avec des germes très variés, aussi bien chez le lapin que chez le cobaye, les examens biopsiques de peau ont été pratiqués chez ces deux animaux ; ils ont fourni d'ailleurs des résultats identiques.

EXAMEN HISTOLOGIQUE DE LA PEAU PRÉLEVÉE IMMÉDIATEMENT ET UN CERTAIN TEMPS APRÈS L'ÉPILATION

Si l'on examine un fragment de peau de cobaye ou de lapin *épilée immédiatement avant la biopsie* on observe peu de lésions : la couche cornée, la couche granuleuse et la couche de Malpighi sont parfaitement continues dans toute l'étendue de la coupe ; cette dernière est mince et offre habituellement deux ou trois

rangs de cellules. Les follicules pileux, vides de leur contenu, sont plus ou moins affaissés sur eux-mêmes : ils contiennent dans leur lumière quelques débris cornés, mais leur revêtement de corps muqueux semble partout continu et dans les papilles mêmes des poils il n'existe



FIG. 1. — Coupe de peau de cobaye prélevée aussitôt après l'épilation. Les follicules pileux vides renferment seulement quelques débris de couche cornée. L'assise malpighienne est partout intacte.

pas de lésions apparentes ; dans le derme et dans l'hypoderme on note seulement la présence de quelques cellules migratrices.

Vingt quatre heures après l'épilation la biopsie d'une peau non infectée ne révèle pas non plus de lésions bien accusées : la diapédèse y est seulement plus intense, et les polynucléaires se voient en plus grand nombre

dans les couches superficielles du derme tout au moins. Dans le corps muqueux, tant à la surface de la peau que dans les follicules pileux, les caryokinèses sont fort rares. MM. Levaditi et Nicolau (1) qui, lors de leur travail sur les ectodermoses neurotropes pratiquèrent des coupes de peau dans de semblables conditions firent des constatations analogues ; ces auteurs, ayant examiné la peau deux heures après l'épilation, ont noté une diapédèse assez abondante au voisinage des papilles dermiques et des bulbes pileux, et ont observé que cette réaction diapédétique très précoce s'effaçait dès la vingt-quatrième heure. Ils signalent aussi la multiplication caryocinétique de la couche de Malpighi particulièrement dans les assises des bulbes pileux : j'avoue n'avoir pas été frappé par l'importance de ce dernier processus.

Si nous examinons maintenant une coupe de peau non infectée, mais *épilée cinq jours avant la biopsie*, nous voyons que l'épiderme présente constamment un épaissement très accusé : le corps muqueux forme un mur épithélial continu de 4 ou 5 assises de cellules, davantage même par places, et que revêt une couche cornée compacte ; les follicules pileux gonflés de cônes pilaires jeunes sont partout en pleine activité : les caryokinèses sont difficiles à trouver mais moins cependant que vingt-quatre heures après l'épilation. Quant au derme, il a repris un aspect absolument normal.

1. Levaditi et Nicolau, *les ectodermoses neurotropes. Etudes sur la vaccine* (Annales de l'Institut Pasteur, XXXVII, janv. 1923, p. 1 à 106).

Ainsi toutes les lésions cutanées créées par l'arrachement des poils semblent se résumer en une diapédèse leucocytaire précoce, peu importante et fugace et en une hypergénèse épithéliale.

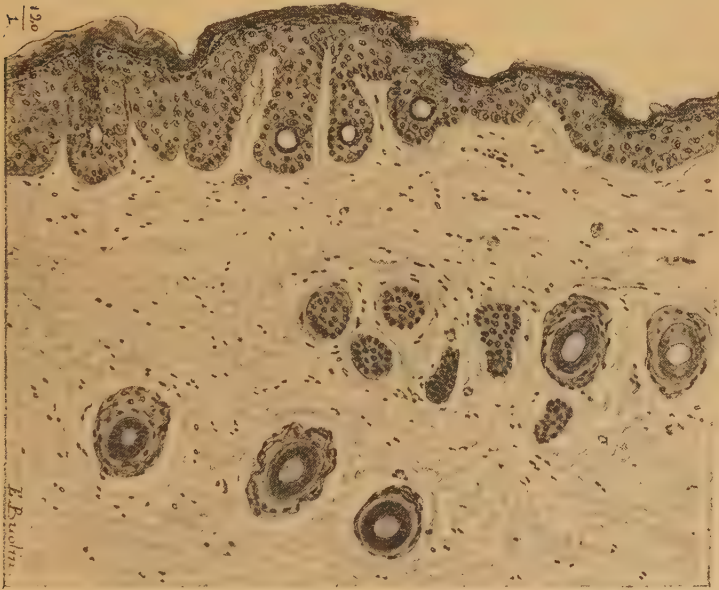


FIG. 2. — Coupe de peau de cobaye prélevée cinq jours après l'épilation. Les follicules pileux sont en reviviscence. Toutes les couches de l'épiderme sont très notablement épaissies. On ne voit aucun processus de diapédèse anormal dans le derme.

EXAMEN HISTOLOGIQUE DE LA PEAU INFECTÉE PAR INOCULATION SUPERFICIELLE

L'examen histologique d'une peau infectée après épilation, par exemple d'une peau de lapin infectée par le streptocoque, et prélevée vers la quarante-huitième heure, au moment où les phénomènes inflammatoires

sont à leur acmé, montre, comme on pouvait s'y attendre, des lésions très accusées

L'épiderme est par places fortement épaissi, offrant plusieurs assises malpighiennes au lieu de la mince couche de corps muqueux que l'on voit à l'état normal ; ailleurs, il est plus ou moins disloqué par la pénétration des polynucléaires et en de nombreux points il est clivé par de petits abcès superficiels qui correspondent aux pustulettes miliaires visibles à l'œil nu. Ces petits abcès, situés entre le corps muqueux et la couche cornée sont bourrés de débris cellulaires et de leucocytes dégénérés se colorant mal par l'hématéine et surtout par les bleus basiques. En dehors de ces lésions toutes superficielles, les désordres s'étendent dans la profondeur, au derme et à l'hypoderme ; dans la trame de ces tissus œdématiés, on voit de nombreuses cellules migratrices et d'autant plus nombreuses qu'on se rapproche davantage de la superficie ; les follicules pileux, bien que toujours en activité et offrant de loin en loin quelques caryokinèses, sont en maint endroit partiellement disloqués par l'afflux des polynucléaires, mais davantage dans leur partie superficielle que dans leur fond.

Il arrive que les lésions inflammatoires soient plus violentes encore : les polynucléaires diapédésés forment alors de véritables amas à la superficie et disloquent complètement le corps muqueux dont il ne subsiste que de petites plages éparses ; mais même dans le cas de lésions aussi considérables, le fond des follicules pileux est relativement peu touché.

L'examen des coupes colorées par le bleu de Unna

ou par la méthode de Gram montre, contrairement à ce qu'on pouvait croire, que les microbes n'ont pas colonisé dans la profondeur; à la surface de la peau, on découvre des amas microbiens mal colorables, soit libres, soit inclus dans les volumineux lambeaux de couche cor-



FIG. 3.— Coupe de peau de lapin infectée par le streptocoque par badigeonnage superficiel aussitôt après épilation. Remarquer la diapédèse considérable dans l'épaisseur du derme et surtout dans les couches les plus superficielles. Les polynucléaires s'insinuent entre les cellules du corps muqueux du revêtement et du corps muqueux des follicules pileux. Deux micro-abcès constitués par un entassement de leucocytes dégénérés clivent la couche cornée.

née qui s'exfolie, soit à l'entrée des follicules pileux mais non dans leur profondeur. Dans les abcès miliaires de l'épiderme il est impossible de mettre en évidence la présence des germes qui probablement ont été en majeure partie détruits. Dans le derme enfin, les recherches

sont vaines et il est tout à fait exceptionnel de rencontrer quelques éléments microbiens isolés de loin en loin. Il s'agit donc avant tout d'une infection superficielle épidermique accompagnée d'une violente réaction inflammatoire sous-jacente, mais d'une pénétration très réduite de germes dans l'épaisseur de la peau.

De pareilles constatations histologiques ne mettent pas du tout en évidence le rôle des follicules pileux dans le mécanisme de l'infection cutanée, en tant que porte d'entrée des germes tout au moins; au contraire, l'absence de microbes dans l'intérieur des follicules pileux et la répartition des lésions qui sont au maximum dans les couches toutes superficielles de la peau et sans relations apparentes avec ces follicules, paraissent démontrer que la réaction inflammatoire dépend de la sensibilité des cellules épidermiques mises en contact avec le virus et non pas de la pénétration de ce virus dans le derme par la voie folliculaire.

Il y a donc lieu de supposer que l'épilation agit en déterminant une véritable sensibilisation cutanée. Cet état passager permettra l'infection de la peau s'il est mis à profit en temps utile; sinon il fera place à une résistance toute spéciale du tégument et dès lors l'infection ne pourra plus être produite. Ce n'est pas là d'ailleurs hypothèse pure, car on peut, en supprimant les causes d'erreurs dues à la plus ou moins grande facilité de pénétration des germes, mettre en évidence la sensibilisation de la peau et sa perte de sensibilité consécutive : c'est ce que va nous montrer la méthode des inoculations intradermiques.

ROLE DE L'ÉPILATION DANS L'INFECTION STREPTOCOCCIQUÉ
DE LA PEAU PAR LA VOIE INTRADERMIQUE

L'inoculation intradermique d'un streptocoque virulent pratiquée dans la peau d'un lapin récemment épilée, à la dose de 1 ou 2 dixièmes de centimètre cube de culture, détermine, dans les vingt-quatre heures qui suivent, le développement d'une plaque inflammatoire d'aspect érysipélateux, parfois escarrotique en son centre et qui s'étend, sans cependant dépasser en aucun cas la région dont les poils ont été arrachés.

Que va-t-il se produire si nous inoculons un germe de virulence semblable dans le derme d'une peau dont les poils ont été arrachés depuis quatre ou cinq jours ? L'expérience suivante va le montrer :

Lapin 89. — Reçoit le 25 juin 1923 trois inoculations intradermiques de 1/10 de centimètre cube de culture en bouillon ascite de streptocoque (M).

a) Sur la fesse droite, inoculée en surface dix jours auparavant et ayant réagi ;

b) Sur la région dorsale droite simplement épilée et rasée quatre jours auparavant ;

c) Sur la région dorsale gauche épilée au moment de l'inoculation.

Le 27, on observe en *a* et *b* un petit nodule inflammatoire arrondi sans aucune tendance extensive ; en *c* au contraire, une large plaque érysipélateuse ecchymotique.

Pareille expérience a été faite sur 15 lapins et a donné des résultats absolument identiques : en aucun cas ne s'est développée la plaque érysipélateuse caractéristique, mais seulement un minime nodule inflammatoire au point inoculé évoluant sans troubles ni accidents vers

la formation d'un petit abcès qui est demeuré enkysté ou s'est ouvert plus ou moins tard à l'extérieur. Dans le cas de l'inoculation intradermique, tout comme dans le cas de l'inoculation cutanée en surface, la peau ne se montre donc sensible à l'infection streptococcique que si elle a subi une épilation récente ; elle perd sa réceptivité quand elle a été épilée quelques jours auparavant.

Il est de toute évidence que, dans ces conditions, l'inoculation étant identique, l'épilation n'a pu agir qu'en déterminant une véritable sensibilisation du derme. Cette sensibilisation est indispensable pour rendre la peau vulnérable ; on pouvait le prévoir en remarquant que les plaques érysipélateuses consécutives aux injections intradermiques ne dépassaient pas dans leur extension la zone de peau dépourvue de ses poils, mais l'expérience suivante vient encore le démontrer plus nettement :

Lapin 34. — Reçoit le 3 octobre 1923, trois inoculations intradermiques de streptocoque (M) :

a) Sur la région postérieure du flanc droit épilée quatre jours auparavant ;

b) Sur la région antérieure du flanc droit épilée au moment de l'inoculation ;

c) Sur le flanc gauche, dans la peau non épilée.

Le 6 on observe en *a* et *c* un minime nodule inflammatoire rouge à peine saillant ; en *b* au contraire une plaque érysipélateuse rouge, infiltrée, avec une escarre centrale sertie à son pourtour par une couronne de vésicules.

Cette expérience, qui fut renouvelée quatre fois avec des résultats identiques, montre la nécessité de sensibiliser le derme pour le rendre réceptif vis-à-vis du streptocoque, et ceci bien qu'on injecte dans sa profon-

deur une quantité considérable de germes virulents. Elle montre avec évidence que tout comme la peau normale, la peau traumatisée par une épilation antérieure n'est guère réceptive vis-à-vis d'un streptocoque cependant pathogène pour l'animal : elle se débarrasse du germe introduit au prix d'un minime nodule inflammatoire. Mais ces faits conduisent à se demander si la peau, passagèrement sensibilisée par l'épilation, a repris ensuite son état normal ou a véritablement acquis un état réfractaire particulier. Il semble bien, nous l'avons vu, que pour l'épiderme, on doive invoquer un semblable état réfractaire ; mais pour le derme le fait est plus difficile à mettre en évidence. On ne peut en effet, déterminer deux fois de suite une irritation comparable à celle de l'épilation, ni par conséquent provoquer une seconde sensibilisation identique à la première.

Il n'est pas sans intérêt de rapprocher de ces diverses constatations les faits signalés par M. Gratia (1). Cet auteur, utilisant une souche de staphylocoques virulents pour le cobaye et voulant observer *in vivo* l'action de filtrats de cultures dissoutes et de cultures lysées par un bactériophage, injecta ces divers produits dans le derme de deux cobayes ; un troisième reçut simplement une injection de bouillon ; tous trois furent éprouvés sous la peau, trente-six à quarante-huit heures plus tard, avec 1 centimètre cube de culture virulente. Aucun d'eux ne réagit alors qu'un cobaye témoin n'ayant rien reçu pré-

1. A. Gratia, *Phagocytose et Immunité locale* (C. R. Biologie, LXXXIX, 1923, n° 28, p. 826-827).

senta à la suite de l'inoculation un placard hémorragique avec nécrose. Le simple bouillon paraissait donc capable de rendre la peau réfractaire. Reprenant semblable expérience avec le charbon, l'auteur put constater qu'une injection intradermique de bouillon était capable, non de protéger l'animal, mais du moins de diminuer sa réceptivité vis-à-vis d'une inoculation sous la peau pratiquée trente-six heures plus tard. M. Gratia attribue l'état réfractaire non spécifique ainsi réalisé à une phagocytose particulièrement intense consécutive à l'irritation du derme par le bouillon, mais il y a lieu de se demander si les phénomènes observés ne tiennent pas simplement à ce que les animaux éprouvés étaient épilés quarante-huit heures avant l'inoculation, tandis que les animaux témoins ne l'étaient sans doute qu'au moment même où elle était pratiquée.

ROLE DE L'ÉPILATION DANS DIFFÉRENTES INFECTIONS CUTANÉES

Toutes les expériences précédentes, faites avec le streptocoque chez le lapin, peuvent être renouvelées chez le lapin et le cobaye avec les germes ou les virus les plus variés. On verra plus tard que l'étude de l'*infection charbonneuse* chez le cobaye permet d'observer des phénomènes très analogues. Le virus charbonneux appliqué sur la peau du cobaye récemment épilée détermine constamment une lésion locale importante, rouge et œdémateuse, et qui est d'ailleurs elle-même suivie dans tous les cas d'une septicémie mortelle. Or, sur

21 cobayes ayant subi l'inoculation superficielle sur une peau épilée depuis quatre à six jours et de nouveau rasée au moment de l'inoculation, aucun n'a présenté de lésion locale comparable : tout au plus quelques-uns ont-il montré de minimes taches rouges disséminées. Cependant, contrairement à ce qu'on pourrait croire, la majorité de ces animaux (15 sur 21) ont succombé à l'infection charbonneuse, prouvant par là que la peau était susceptible, même quand elle a perdu sa réceptivité, de se laisser traverser par certains germes particulièrement virulents. Nous reviendrons plus loin sur la question très spéciale de l'infection charbonneuse.

Avec la *pasteurellose* qui sera étudiée dans le chapitre suivant, avec le *paratyphique B*, les résultats sont superposables à ceux du streptocoque. Enfin, même avec des virus filtrants dont les affinités épithéliales sont toutes particulières tels que l'*herpès* et la *vaccine*, les mêmes caractères généraux de réceptivité de la peau peuvent être mis en évidence.

Trois lapins furent inoculés sur la peau épilée récemment et anciennement avec un virus herpétique susceptible de déterminer régulièrement chez cet animal des lésions épidermiques vésiculeuses.

Voici le résultat d'une de ces expériences :

Lapin 93. — Le 17 août 1923 inoculation de deux territoires cutanés par application en surface de virus herpétique (émulsion glycérinée de cerveau de lapin mort d'encéphalite herpétique)

a) Cuisse gauche épilée et rasée quatre jours auparavant et de nouveau rasée au moment de l'inoculation.

b) Cuisse droite épilée et rasée au moment même de l'inoculation.

Trois jours après, le 20 août, on observe une dizaine d'éléments vésiculeux typiques et recouverts de croûtelles en *b*, alors qu'en *a* la peau est demeurée absolument intacte.

b) Le 25 août, apparaît même une paralysie du membre inférieur droit, alors que le membre inférieur gauche est indemne ; cinq jours plus tard l'animal devient paraplégique et meurt d'encéphalite.

La même expérience répétée chez les deux autres animaux donna des résultats tout-à-fait semblables ; elle montre que le virus herpétique, malgré son affinité épithéliale toute spéciale ne paraît pas capable de végéter sur un épiderme dont la résistance est accrue par une épilation antérieure.

Le virus vaccinal permet de faire des constatations analogues, mais avec quelques particularités cependant.

RÔLE DE LA SENSIBILISATION CUTANÉE DANS L'INFECTION VACCINALE. — On sait que, chez le lapin, l'inoculation de pulpe vaccinale à l'aide d'un vaccinostyle, comme on la pratique chez l'homme, ne détermine pas constamment l'infection. Si au contraire, on applique le vaccin sur la peau épilée et rasée ou simplement épilée, ainsi que MM. Levaditi et Nicolau l'ont montré, on se trouve dans les meilleures conditions pour déterminer l'infection : au bout de deux à trois jours l'animal offre un placard confluent de pustules vaccinales. La réceptivité de la peau fraîchement et anciennement épilée vis-à-vis de la vaccine, fut éprouvée chez cinq animaux ; voici une de ces expériences :

Lapin 88. — Reçoit le 17 août 1923, des inoculations cutanées de pulpe vaccinale émulsionnée dans du sérum physiologique :

a) Sur la peau du flanc gauche épilée et rasée quatre jours auparavant et de nouveau rasée au moment de l'inoculation.

b) Sur la peau du flanc droit épilée et rasée seulement au moment de l'inoculation.

Le 20 août on observé en *a* seulement sept éléments épars, tandis que la zone *b* offre des éléments innombrables et confluent qui forment par la suite un large placard croûteux.

Les quatre autres expériences donnèrent des résultats semblables.

On voit que dans le cas de la vaccine, l'épiderme n'a pas perdu, plusieurs jours après l'épilation tout pouvoir réceptif, mais qu'il se laisse infecter beaucoup moins facilement. Le fait est d'autant plus curieux que l'inoculation de vaccin par voie intraveineuse donne des résultats tout à fait opposés.

On sait depuis les travaux de A. Calmette et Guérin qu'à la faveur de l'épilation, l'inoculation intra-veineuse d'une dose importante de pulpe vaccinale détermine habituellement sur la zone dénudée, l'apparition d'un certain nombre d'éléments éruptifs.

Trois lapins furent inoculés par voie intra-veineuse et reçurent l'émulsion centrifugée de deux tubes de vaccin dans 5 centimètres cubes de sérum physiologique. Sur chacun de ces animaux une plaque cutanée avait été épilée au moment de l'inoculation intraveineuse, une autre cinq jours auparavant.

Or chez deux de ces animaux, l'éclosion de pustules vaccinales fut, trois jours après l'inoculation intraveineuse, identique sur les deux zones épilées. Chez le troisième, les phénomènes furent plus singuliers : voici cette dernière expérience.

Lapin 48. — Reçoit le 5 février 1924, en inoculation intraveineuse, l'émulsion dans 5 centimètres cubes de sérum physiologique d'un tube 1/2 de vaccin ; cette émulsion est centrifugée avant l'inoculation pour la débarrasser des particules solides volumineuses.

Une plaque cutanée sur le *flanc gauche* a été épilée cinq jours auparavant ; une autre sur le *flanc droit* au moment même de l'inoculation.

Le 9, on observe sur le flanc gauche de très nombreux éléments et trois seulement sur le flanc droit. Le 12, les éléments éruptifs du flanc gauche sont demeurés à l'état papuleux, mais sur le flanc droit, on observe à côté des trois éléments de même âge, de nombreux éléments plus petits et mal développés, d'apparition récente.

Il semble résulter de cette expérience que si, dans l'infection vaccinale, la sensibilisation de la peau par l'épilation est indispensable pour faire apparaître l'éruption, cette sensibilisation n'est pas ici transitoire, qu'elle se prolonge et qu'elle augmente même un certain temps après l'épilation. L'apparition tardive d'une deuxième poussée sur le flanc droit de l'animal, paraît démontrer ce fait et la petitesse des éléments tardifs s'explique sans doute pas la demi-immunité qui existe dès cette époque. Comment concilier cette sensibilisation prolongée de l'épiderme, (peut-être due, comme le veut M. Levaditi, à la multiplication caryocinétique du corps muqueux) avec l'état demi-réfractaire que démontre une inoculation superficielle ? Il est permis de supposer qu'intervient encore ici le rôle de l'épaississement du corps muqueux et la résistance particulière des cellules superficielles qui protègent contre le virus l'assise génératrice profonde, demeurée très sensible.

D'ailleurs, bien que la sensibilisation cutanée résultant de l'épilation n'ait pas vis-à-vis de la vaccine le caractère éphémère qu'elle montre vis-à-vis de divers autres virus, il n'en demeure pas moins que cette sensibilisation paraît nécessaire au développement des lésions cutanées et que sans elle le virus peut exister dans la peau sans s'y développer. L'absence de pustules vaccinales sur la peau des lapins inoculés par voie intraveineuse, quand l'épilation n'a pas été pratiquée, permettait de le supposer ; mais la recherche du virus dans la peau chez des animaux inoculés de cette manière le montre clairement.

MM. Levaditi et Nicolau ont fait semblable recherche chez des lapins inoculés par voie intratrachéale ou sanguine et ils ont constaté que le virus pouvait être retrouvé dans la peau *surtout quand celle-ci avait été préalablement épilée*. La question étant importante pour le sujet qui nous occupe, j'ai renouvelé les expériences des ces auteurs sur quatre lapins. Ces animaux reçurent par voie intraveineuse une émulsion de 2 tubes de vaccin dans du sérum physiologique ; au bout de un à cinq jours deux biopsies furent pratiquées sur chaque animal, l'une dans la zone épilée au moment de l'inoculation, l'autre dans la peau demeurée intacte. Les fragments de peau prélevés, de la dimension de 1 centimètre carré environ, furent hachés aux ciseaux et broyés isolément au mortier avec un peu de glycérine et de sérum physiologique (on obtient de cette manière, après une longue trituration, une émulsion épaisse et glaireuse) ; enfin le produit du broyage fut appliqué sur la

peau fraîchement épilée et rasée d'un lapin qui servait ainsi de réactif.

Chez deux des animaux étudiés dont les biopsies furent pratiquées respectivement au bout de vingt-quatre et quarante-huit heures, la recherche du virus fut vaine, aussi bien dans la peau épilée au moment de l'inoculation que dans la peau non épilée.

Chez deux autres animaux, au contraire, le virus put être retrouvé.

Lapin 33. — Le 3 janvier, épilation, rasage du flanc gauche et inoculation intraveineuse de l'émulsion centrifugée de deux tubes de vaccin.

Le 5 janvier, prélèvement d'un fragment de la peau épilée le 3 et d'un fragment de peau normale; ces deux fragments sont broyés et transformés chacun en une émulsion glycinée qui séjourne vingt-quatre heures à la glacière.

Le 6 janvier, inoculation de ces deux émulsions sur la peau fraîchement épilée rasée du *lapin 8*.

a) Flanc gauche : émulsion de peau normale.

b) Flanc droit : émulsion de peau épilée depuis quarante-huit heures.

Le 9 : en a aucune lésion O.

en b nombreuses pustules +++.

Lapin 34. — Le 3 janvier, même épilation et même inoculation que chez le précédent animal.

Le 8 janvier la peau épilée offrant une abondante éruption, aucune biopsie n'est faite sur elle; prélèvement d'un fragment de peau saine, broyage et émulsion; conservation de l'émulsion à la glacière.

Le 9 janvier, inoculation de cette émulsion sur la peau fraîchement épilée et rasée du *lapin 17*.

Le 12, présence de pustules +.

Chez le premier de ces animaux, le virus put donc être retrouvé seulement dans la peau épilée depuis deux jours, et son abondance indique que la pullulation du virus avait déjà commencé.

Par contre, chez le deuxième animal dont la peau épilée était en pleine éruption vaccinale, le virus put être retrouvé dans la peau saine. Pour isolé qu'il soit, ce fait n'en a pas moins une grande importance, car il prouve que le virus peut être amené par voie sanguine dans la peau sans que cependant la pullulation y ait lieu, si une sensibilisation du tissu n'est pas artificiellement réalisée ; d'ailleurs si l'on considère les chances d'insuccès qui se présentent au cours d'une telle expérience, on comprendra que, pour être décelable par ce procédé, la quantité de virus contenue dans la peau doit être assez abondante ; si chez les trois autres animaux, la recherche a été négative dans le minime fragment de peau prélevé, il n'est pas permis d'en inférer que le virus fût absent dans toute l'étendue de la peau saine. Ainsi le rôle de la sensibilisation cutanée dans la genèse de la pustule vaccinale apparaît comme nécessaire, non pas seulement en tant que point d'appel du virus, mais en tant que facteur de la pullulation. Et il est peut-être permis de rapprocher de ce fait les résultats de l'inoculation intradermique du streptocoque chez le lapin, qui, elle aussi, ne peut engendrer de lésion importante qu'à la faveur d'une sensibilisation préalable. Les deux virus sont bien différents ; la susceptibilité de la peau vis-à-vis de l'un d'eux est bien spéciale ; cependant les caractères essentiels de la réceptivité cutanée demeurent comparables dans ces deux cas.

* * *

Grâce à l'ensemble de ces expériences il est désormais possible de se faire une idée des conditions de réceptivité de la peau vis-à-vis d'infections très diverses. La peau, chez les animaux étudiés tout au moins, est normalement peu réceptive, non seulement en raison de sa couche cornée protectrice, mais encore du fait de la résistance à l'infection de son tissu même. Pour la rendre accessible à l'infection il faut la sensibiliser. Or cette sensibilisation est réalisée au mieux et d'une façon quasi élective par la manœuvre la plus simple, l'épilation ; cet état est très éphémère, et peu de jours plus tard la peau n'est plus capable de répondre à l'infection, en dépit de toutes les excoriations mécaniques. Il est probable que la résistance du tégument relève à des degrés divers de plusieurs facteurs : d'une part de la prolifération épithéliale, de l'épaississement du corps muqueux que montre l'histologie et qui crée une certaine barrière mécanique ; d'autre part d'un retour à l'état antérieur de sa résistance cellulaire normale qu'on ne peut briser, faute de pouvoir répéter la même manœuvre ; enfin, vraisemblablement d'une résistance nouvelle, acquise, de son épiderme vis-à-vis de n'importe quel agent infectieux.

Il peut paraître singulier que j'aie consacré tant de pages à l'étude d'un phénomène assez banal d'apparence. C'est que ce phénomène banal gêne considérablement la recherche de l'immunité locale de la peau

qui est un des objets principaux de ce travail. Il est facile de scarifier une cornée, de l'infecter avec un virus, et, après guérison de rechercher comment cette cornée réagira vis-à-vis d'une nouvelle inoculation pratiquée de la même manière. Rien de semblable n'est possible avec la peau. *En aucun cas, l'état réfractaire spécifique d'un territoire cutané, préalablement infecté, ne pourra être mis en évidence, puisque l'état réfractaire banal de la peau le masquera s'il existe et le remplacera s'il n'existe pas.* Il en résulte que, si l'inoculation cutanée d'un virus ou d'un vaccin détermine l'apparition d'une immunité locale, celle-ci pourra seulement se manifester si elle atteint tout le revêtement tégumentaire, ou tout au moins déborde notablement le territoire inoculé.

CHAPITRE II

INFECTION PASTEURELLIENNE EXPÉRIMENTALE DE LA PEAU CHEZ LE COBAYE IMMUNISATION PAR LA VOIE CUTANÉE

Le premier germe employé pour l'étude de l'infection et de l'immunisation par voie cutanée fut une pasteurella de provenance humaine et c'est lui qui m'a conduit à ces recherches d'un ordre plus général. L'étude bactériologique de cette pasteurella a paru dans un travail antérieur fait en collaboration avec MM. Teissier, Gastinel et Reilly et à la fin duquel figurent les résultats de l'inoculation cutanée. Je reproduis d'abord les expériences faites à cette époque en rappelant que le germe employé était pour tous les animaux de laboratoire d'une extrême virulence, déterminant régulièrement la mort de la souris au 1/10.000.000 de centimètre cube et du cobaye 1/1.000.000 par les voies sous-cutanée ou intra-péritonéale.

LA LÉSION LOCALE. — SES MODALITÉS. — RARETÉ DE L'INFECTION GÉNÉRALE CONSÉCUTIVE

Si l'on pratique avec une culture en bouillon de vingt-quatre heures d'une telle pasteurella, un badi-

geonnage sur la peau d'un cobaye soigneusement épilée, mais non scarifiée, on observe le lendemain une réaction très particulière : toute la zone inoculée est rouge, épaissie, saillante ; l'inflammation est rigoureusement limitée par un bourrelet plus ou moins accusé, mais tranchant nettement sur la peau environnante ; quand la réaction est très intense, la peau prend un aspect erysipélateux mais en aucun cas on n'observe de tendance extensive. L'examen à la loupe, ou même à l'œil nu montre à la surface de la peau un semis de vésicules miliaires qui peuvent parfois devenir de vraies petites bulles pleines d'un liquide louche séro-purulent ; le tissu cellulaire sous-cutané n'accuse aucune infiltration œdémateuse. Le deuxième ou le troisième jour les vésicules se rompent, de fines croûtelles se forment, tandis que la rougeur s'atténue ; puis toute la zone inoculée desquame et vers le dixième jour la peau a repris son aspect normal ; l'animal en est quitte pour une légère élévation thermique, un peu d'amaigrissement au début, puis il se rétablit complètement ; 19 animaux furent inoculés dans ces conditions et aucun ne succomba.

Ajoutons qu'il est toujours facile de retrouver la pasteurella dans le liquide des vésicules et d'en obtenir une culture pure dont la virulence est intacte et qui est capable de tuer la souris au 1/10.000.000 de centimètre cube.

Il est possible de faire varier dans une certaine mesure cette réaction cutanée du cobaye en modifiant la virulence de la culture employée. Si l'on atténue en effet la virulence de la culture par vieillissement, la

réaction cutanée se réduit à un simple placard érythémateux, sans bourrelet et sans développement de vésico-pustules.

Cobaye 37/61. — Le 9 septembre 1921, badigeonnage sur la peau simplement épilée avec une culture repiquée et conservée à la glacière dont la virulence pour la souris ne dépasse pas 1/100.000 de centimètre cube par voie intra-péritonéale. Le 10 novembre : réaction locale légère disparaissant le 12.

Cobaye 39/61. — Le 13 novembre 1921, même inoculation avec la même culture : simple érythème disparaissant en quelques heures.

En employant par contre une culture de virulence exaltée par passages alternatifs sur la souris et le cobaye et pouvant tuer la souris au 1/100.000.000 de centimètre cube, il est possible de déterminer sur la peau du cobaye une lésion intense avec vésico-pustules confluentes, entraînant l'œdème du tissu cellulaire sous-cutané, l'hyperthermie et la mort de l'animal.

Cobaye 100. — Le 11 octobre 1921, épilation et badigeonnage avec la culture exaltée : le 12, grosse réaction vésico-pustuleuse et œdémateuse ; mort de l'animal le 13.

Cobaye 102. — Le 15 octobre 1921 même inoculation avec la même culture ; le 16 réaction érythémateuse violente avec nombreuses vésicules ; le 17, vésicules volumineuses et œdème ; mort le 18.

On voit donc que la mort peut être obtenue par inoculation de la peau sans avoir fait subir à celle-ci d'autre traumatisme que la simple épilation, mais il faut pour cela employer une culture d'une exceptionnelle virulence.

Par contre si l'on traumatise la peau épilée en la rasant et en la scarifiant avec l'extrémité brisée d'une

pipette Pasteur, on peut déterminer la mort en employant une culture qui, sur la peau simplement épilée, ne provoquerait qu'une lésion locale.

Cobayes 95 et 96. — 8 décembre 1921, inoculation d'une culture de vingt-quatre heures sur la peau scarifiée : le lendemain, plaque œdémateuse infiltrée avec quelques vésico-pustules et mort des deux animaux.

Cobaye 99 (témoin). — Inoculation avec la même culture sur la peau simplement épilée : le lendemain, réaction érythémateuse avec vésico-pustules. Survie.

L'infection générale mortelle a également été observée chez un cobaye inoculé sur la peau et qui avait été mordu par un autre cobaye dans la région inoculée ; chez un cobaye dont la peau infectée avait subi une biopsie pour étude histologique, et enfin chez 4 cobayes qui avaient été inoculés par voie intra-dermique ; ces derniers ont succombé dans un délai variant de trois à cinq jours.

Toutes ces expériences établissent nettement que, pour obtenir une lésion seulement locale avec ce germe virulent, il est nécessaire d'inoculer une peau simplement épilée. L'examen histologique de la peau montre, dans ces cas, un processus inflammatoire limité au corps muqueux avec formation de micro-abcès. Dans les cas au contraire où l'inoculation est faite sur une peau scarifiée, les lésions diffusent au delà du corps muqueux et gagnent la profondeur du derme et le tissu cellulaire.

L'IMMUNITÉ CONSÉCUTIVE AUX INOCULATIONS CUTANÉES

La réaction locale obtenue à l'aide de la pasteurellose étudiée, est capable d'entraîner des réactions

d'immunité qui ont été envisagées au triple point de vue : immunité locale segmentaire, immunité cutanée à distance et immunité générale.

Localement, la plage inoculée est toujours réfractaire à une nouvelle inoculation, quelle que soit la virulence du germe et quand bien même la deuxième application serait précédée d'excoriations épidermiques profondes. Nous avions jadis interprété ce fait absolument constant comme une bonne preuve d'immunité locale d'un territoire cutané, mais nous savons maintenant qu'une pareille interprétation n'est pas légitime et qu'il s'agit évidemment d'un état réfractaire non spécifique de la peau.

A distance, le revêtement cutané ne présente pas, au début tout au moins, d'immunité appréciable, et des inoculations successives sur des territoires cutanés nouveaux déterminent chaque fois une réaction inflammatoire avec vésiculation, en tous points semblable à celle obtenue lors de la primo-inoculation.

Toutefois, si l'on repète en série ces inoculations régulières, on constate une atténuation progressive des réactions cutanées qui, finalement se réduisent à un érythème sans vésiculation, comparable à celui obtenu par l'inoculation sur un animal neuf d'une culture de virulence atténuée.

Voici une de ces expériences :

Cobaye 74. — Le 24 septembre 1921, inoculation sur une région simplement épilée du flanc droit avec une culture virulente de vingt-quatre heures ; le 25 septembre, érythème intense et semis de vésicules dont le contenuensemencé donne une culture pure du germe.

Le 27 septembre, la réaction étant à peu près terminée, une nouvelle inoculation est pratiquée au même point, ainsi que sur une zone neuve du flanc gauche.

Le 28, la plage, antérieurement inoculée est indemne, mais la plage inoculée pour la première fois offre une réaction vésiculeuse intense, l'animal maigrit notablement.

Le 10 octobre, inoculation d'une nouvelle plage de l'abdomen épilée, avec une culture virulente de vingt-quatre heures et inoculation de la zone du flanc gauche, inoculée le 27, de nouveau rasée.

Le 12, aucune réaction sur le flanc gauche, et sur l'abdomen simple rougeur, sans vésiculation.

Même expérience sur les cobayes 99 et 100.

L'immunité générale enfin a pu être obtenue, dans une certaine mesure tout au moins, mais elle a demandé pour être réalisée au moins deux inoculations cutanées successives ayant déterminé chacune une réaction érythémato-vésiculeuse.

Cobaye 74 (déjà signalé) ayant reçu trois inoculations cutanées les 24 septembre, 27 septembre et 10 octobre.

Le 6 octobre, inoculation d'épreuve intra-péritonéale avec 1/5.000 de centimètre cube de culture virulente.

Un témoin (94) reçoit 1/10.000 de la même culture intrapéritonéale.

Ce témoin est mort le lendemain, tandis que le cobaye 74 résiste.

Le 14 octobre, inoculation sur une zone de peau fraîchement épilée et scarifiée, avec une culture de virulence exaltée, tuant la souris au 1/100.000.000 : aucune réaction ne se produit.

La même expérience a été réalisée avec les mêmes résultats sur trois cobayes.

Au contraire, l'immunité générale s'est montrée nulle ou insignifiante quand la réaction cutanée s'était bornée à une simple plaque érythémateuse, ainsi qu'il ressort des expériences suivantes.

Cobaye 43. — Inoculation sur la peau fraîchement épilée le

18 juillet et le 26 juillet 1921 avec une culture virulente de vingt-quatre heures. Simple rougeur sans vésicules ; le 10 août, inoculation d'épreuve intrapéritonéale : mort de l'animal le 11.

Quelquefois cependant une réaction cutanée médiocre est capable, sans immuniser complètement l'animal, d'augmenter nettement sa résistance vis-à-vis de l'inoculation d'épreuve.

Cobaye 61. — Inoculation cutanée les 18, 24 et 26 juillet et le 4 août ; chaque fois, simple réaction érythémateuse ; le 9 août, inoculation d'épreuve intrapéritonéale avec 1/8.000 de centimètre cube de culture virulente de vingt-quatre heures : l'animal meurt seulement le 18 août, alors que l'animal témoin avait succombé le lendemain de l'inoculation.

Notons que dans tous ces cas d'immunisation générale par voie cutanée, la recherche des agglutinines dans le sérum des animaux est restée constamment négative, et l'état réfractaire s'est établi sans qu'il fût possible de mettre en évidence *in vitro* un état humoral particulier.

IMMUNISATION DE LA PEAU PAR IMMUNISATION GÉNÉRALE

Il est important de comparer ces résultats obtenus par inoculations cutanées successives avec ceux de l'inoculation par voie générale des germes tués et même avec les résultats de l'immunité passive.

L'immunisation du cobaye vis-à-vis du germe étudié put être réalisée facilement : sur 7 animaux, 5 furent rendus réfractaires, ils reçurent à trois ou quatre reprises 1/2 à 1 centimètre cube d'une culture tuée par chauffage à 56 degrés, puis des inoculations, progressivement crois-

santes, d'une culture virulente tuant la souris au 1/100.000 de centimètre cube; soit 1/500 de centimètre cube, puis 1/10, 2/10 de centimètre cube et enfin 1 centimètre cube; un mois environ après le début de l'immunisation, ils subirent une inoculation d'épreuve de 1 centimètre cube d'une culture extrêmement virulente tuant la souris au 1/100.000.000, et résistèrent à cette inoculation.

Chez ces animaux, ainsi solidement immunisés, la recherche du pouvoir agglutinant du sérum ne se montra pas positive au delà du 1/50.

Les mêmes animaux, éprouvés par la voie cutanée manifestèrent une immunité de leurs téguments, aussi parfaite que leur immunité générale.

Voici deux de ces expériences :

Cobayes 70/34 et 37/34 immunisés à l'aide du germe chauffé et éprouvés vis-à-vis d'une culture virulente dont ils supportaient jusqu'à 2 centimètres cubes.

Le 27 octobre, badigeonnage de la peau fraîchement épilée avec une culture virulente : réaction nulle.

L'immunité générale passive put également être réalisée chez le cobaye, à l'aide du sérum d'un chien immunisé qui, à la dose du 1/50 de centimètre cube, préservait les animaux contre une injection de 10 doses mortelles faite le lendemain.

Or la même méthode permet d'obtenir également l'état réfractaire du territoire cutané :

Cobaye 83. — Reçoit le 1^{er} octobre 1921, 1/2 centimètre cube de sérum de chien immunisé : le 2, la peau est épilée et badigeonnée avec une culture virulente ; le 3, la réaction est nulle, alors que le cobaye témoin 84 inoculé le même jour avec la même cul-

ture offre le lendemain une réaction typique vésico-pustuleuse. Mêmes résultats obtenus avec le cobaye 85.

* * *

Chez le lapin, toutes les tentatives d'immunisation générale à l'aide de germes chauffés, de germes tués par l'alcool-éther, ou de germes atténués par vieillissement, échouèrent ; elles conduisirent dans les cas les plus heureux à une ébauche d'immunisation, mais le plus souvent à un échec total ; la recherche des agglutinines chez ces animaux montra cependant un pouvoir agglutinant du sérum variant de 1/20 à 1/100. Chez le même animal, l'inoculation par voie cutanée ne donna pas de meilleurs résultats ; elle ne détermina aucune réaction ou bien au contraire une septicémie rapidement mortelle sans phénomènes locaux.

L'inoculation cutanée, essayée chez le rat et chez la souris, conduisit au même échec que chez le lapin. Disons enfin que plusieurs pasteurelloses autres que la précédente furent essayées en application locale sur la peau épilée du cobaye : une souche de pasteurellose spontanée du lapin et une souche de choléra des poules ne permirent ni l'une ni l'autre d'observer le phénomène précédemment décrit, qui paraît lié à la virulence exceptionnelle du germe étudié, peut-être aussi à des propriétés acquises lors de son passage dans l'organisme humain.

CONCLUSIONS

Tels sont les résultats des expériences faites en 1921. Deux ans plus tard, quand j'entrepris les recherches qui nous occupent, je voulus naturellement reprendre les expériences d'infection cutanée avec le germe qui avait donné des résultats si constants. Malheureusement, la souche conservée au laboratoire avait perdu en grande partie sa virulence. Remontée par des passages sur le cobaye et la souris, elle devint capable à nouveau de tuer à dose minime les animaux de laboratoire ; malgré cela l'infection locale cutanée ne put être de nouveau réalisée chez le cobaye. Tantôt les animaux succombaient, tantôt ils survivaient, mais ni dans un cas ni dans l'autre leur peau ne présentait la réaction locale précédemment observée. S'agit-il d'une affinité cutanée perdue par vieillissement de la culture, ou comme il a été vu plus tard avec le streptocoque, d'une adaptation trop grande du germe aux animaux inoculés ? Il est fort difficile de le dire, mais ces échecs ne sauraient infirmer la valeur d'expériences anciennes et il est possible, en nous basant sur elles, de tirer un certain nombre de conclusions, valables au moins pour le germe étudié et l'animal qui servit à cette étude :

1° *Il est possible, avec un germe d'une grande virulence pour l'animal et qui détermine constamment une septicémie mortelle quand on l'injecte sous la peau, de produire au contraire une lésion purement locale et curable lorsqu'on l'applique en badigeonnage sur la peau du cobaye simplement épilée ;*

2° Cette propriété que possède la peau de réagir au point d'inoculation offre un parallélisme assez étroit avec la virulence du germe. Une culture peu virulente détermine une simple rougeur ; une culture très virulente, une réaction érythémato-vésiculeuse ; une culture de virulence extrêmement exaltée enfin, produit une réaction vésiculo-œdémateuse avec septicémie mortelle ;

3° Cette inoculation cutanée entraîne un état réfractaire évident. Éliminant l'état réfractaire strictement local de la peau inoculée une première fois qui, nous le savons, est un phénomène banal, nullement spécifique, nous voyons que l'immunité de la peau à distance est toujours incomplète et faible : elle exige pour se manifester des inoculations successives. L'immunité générale, au contraire, est certaine, mais nécessite pour apparaître au moins deux inoculations fortement positives. Cette immunité sans doute est moins solide que celle obtenue à l'aide des méthodes classiques, mais elle n'est pas douteuse et offre le caractère particulier de nécessiter pour être réalisée, l'emploi, non pas de germes atténués, mais au contraire de culture en pleine virulence.

Indépendamment de ces conclusions qui ne sont que l'expression des faits observés, il semble possible de tirer des expériences précédentes quelques déductions d'intérêt plus général. C'est d'une part, *l'indépendance entre l'immunité acquise de l'organisme et l'existence de propriétés agglutinantes du sérum*, d'autre part

la dépendance étroite entre l'état réfractaire général et l'état réfractaire de la peau.

Il n'est pas douteux que dans le cas particulier la présence d'agglutinines est un phénomène contingent. Elle ne fournit, ni la mesure de l'immunité, ni une base de distinction entre l'immunité obtenue par les deux méthodes. Complètement nul dans l'état réfractaire assez solide consécutif aux inoculations cutanées, le pouvoir agglutinant du sérum est encore très faible, ne dépassant pas 1/10 dans l'immunité très solide obtenue par voie générale; fait plus curieux encore, ce pouvoir agglutinant atteint un taux au moins égal chez le lapin, animal qui n'a jamais pu être immunisé par n'importe quelle méthode. Admettons même que ce faible pouvoir agglutinant soit la règle dans l'immunité obtenue à l'aide de germes tués, et manque constamment dans l'immunité obtenue par voie cutanée; il reste évident que sa mesure ne fournit qu'une méthode d'appréciation illusoire du degré d'immunité.

D'autre part, l'état réfractaire général et l'état réfractaire cutané paraissent se modifier parallèlement, dans une certaine mesure tout au moins. Il peut bien arriver qu'un animal neuf, donc très sensible au germe, ne soit susceptible que d'une réaction cutanée très médiocre, mais, chez un animal capable de fortes réactions locales on ne voit pas la réceptivité de la peau diminuer, sans que l'animal offre en même temps un certain degré d'immunité générale; enfin c'est chez les cobayes doués d'une solide immunité active ou passive acquise par voie générale, que la peau se montre douée d'un état réfractaire

complet. L'immunité générale paraît donc accompagner obligatoirement l'immunité tégumentaire et il semble même qu'elle devance l'apparition de cette dernière.

*
* * *

Il résulte de ces diverses constatations que dans le cas de la pasteurellose étudiée, il est possible d'obtenir l'immunisation de l'animal par la voie cutanée en employant une culture virulente, mais que l'immunité résultant de cette méthode ne paraît en rien différente de l'immunité obtenue à l'aide des procédés classiques de vaccination, si ce n'est qu'elle demeure moins complète. Ni dans l'un ni dans l'autre cas, la présence d'anticorps décelables dans les humeurs par les procédés actuels d'investigation n'est suffisamment importante pour qu'on puisse leur attribuer un rôle exclusif dans la défense de l'organisme. Dans l'un et l'autre cas cependant il s'agit bien d'une immunité générale puisque l'animal, une fois immunisé, reste insensible à toutes les inoculations ultérieures, qu'elles soient superficielles ou profondes. Enfin, au cours de l'immunisation par la voie cutanée, on ne voit survenir l'insensibilité du tégument qu'à dater du moment où l'immunité générale commence à s'affirmer. Il n'est donc pas possible de reconnaître l'existence d'une immunité locale tégumentaire indépendante, fût-ce comme simple prélude de l'immunité générale.

Quant au mécanisme de l'immunité obtenue par la voie cutanée on ne peut naturellement que le présumer ;

peut-être lors du conflit local entre les germes et les cellules de la peau, la lyse microbienne engendre-t-elle des substances particulières susceptibles d'impressionner l'ensemble de l'organisme ; peut-être s'agit-il de la résorption lente de produits microbiens solubles qui auraient le même rôle ; ou peut-être doit-on plus simplement invoquer la pénétration dans l'organisme d'un petit nombre de germes vivants, mais atténués par leur passage à travers la peau. De toute façon la peau semble n'avoir dans cette infection qu'un rôle défensif banal, et ne paraît dans la genèse de l'immunité, jouir d'aucune propriété particulière.

CHAPITRE III

INFECTION STREPTOCOCCIQUE EXPÉRIMENTALE DE LA PEAU CHEZ LE LAPIN. ESSAIS D'IMMUNISATION PAR LA VOIE CUTANÉE

A l'encontre de l'infection précédente qui, en raison de son extrême rareté chez l'homme, peut être considérée comme une curiosité bactériologique, l'infection streptococcique est des plus fréquentes et des plus banales. On sait que le streptocoque fait preuve souvent d'une véritable affinité cutanée, qu'il engendre l'érysipèle, l'impétigo de Tilbury Fox et peut être incriminé dans de nombreuses infections épidermiques. D'autre part, ce germe paraît peu susceptible de provoquer, quel que soit le lieu de l'économie où il se développe, l'éclosion d'un processus d'immunité ; il y avait lieu dès lors de se demander si, chez le lapin, animal particulièrement sensible au streptocoque, l'infection par la voie cutanée pouvait conduire à observer des faits nouveaux et intéressants pour la pathologie humaine.

L'INFECTION STREPTOCOCCIQUE CUTANÉE EXPÉRIMENTALE
CHEZ LE LAPIN

L'inoculation du streptocoque dans l'oreille du lapin et la lésion dite érysipèle expérimental qui en résulte, sont des faits connus depuis fort longtemps ; mais leur interprétation mérite d'être discutée, car la lésion ainsi obtenue n'est, ni par son mode d'obtention ni par ses caractères objectifs, analogue à l'érysipèle humain. Pour la produire, il ne suffit pas d'une éraillure infectée, ni même d'une minime inoculation intradermique ; il faut une quantité déjà plus importante de germes, et une inoculation sous-cutanée. Dans ces conditions la culture injectée fuse dans l'hypoderme, surtout le long des gaines vasculaires et l'on voit au bout de vingt-quatre heures apparaître les phénomènes conformes à la description classique : l'oreille est chaude, rouge, tuméfiée dans sa totalité, procidente, douloureuse ; l'œdème augmente encore les jours suivants et souvent la peau de l'oreille se couvre de phlyctènes. En même temps, l'animal est sommolent, a de la fièvre, de la diarrhée, maigrit et dans un certain nombre de cas meurt de septicémie. Quand il guérit, l'œdème ne diminue que fort lentement et pendant longtemps l'oreille demeure procidente et infiltrée. L'inflammation qui atteint en bloc toute l'oreille et ne se propage en aucun cas au derme des régions voisines, est elle même beaucoup plus une cellulite massive de tout l'organe qu'une dermite, et n'a pas, de la plaque érysipélateuse, le caractère progressivement extensif.

Pour obtenir une inflammation strictement localisée à la peau, il faut inoculer le streptocoque, soit en surface sur la peau récemment épilée, soit par voie intradermique mais encore dans la peau récemment épilée.

Dans le cas d'inoculation superficielle avec une souche de virulence suffisante, on voit apparaître la lésion qui nous est déjà connue : une plaque rouge, chaude, saillante, œdémateuse et profondément infiltrée, recouverte d'un granité de pustulettes miliaires qui, par leur rupture, laissent bientôt une surface érosive et suintante plus ou moins recouverte de croûtes. La plaque ainsi produite augmente quelquefois un peu d'étendue pendant un jour ou deux, mais elle ne dépasse en aucun cas les limites de l'épilation ; la réparation de ces lésions s'effectue assez rapidement, les croûtes tombent et les érosions s'effacent sans cicatrices ; cependant il persiste une infiltration notable du tégument qui met huit à dix jours à disparaître. Souvent aussi un ou plusieurs abcès sous-cutanés se forment et évoluent lentement, sans nouveaux phénomènes inflammatoires, vers l'ouverture à la peau. Selon la virulence pour la peau du germe employé, la réaction peut s'exagérer, se compliquer d'un piqueté purpurique, de véritables suffusions hémorragiques ou même de plaques de sphacèle, ou bien au contraire elle se dégrade et se réduit à une rougeur œdémateuse sans vésicules ou même à un simple érythème.

Si, au lieu de l'inoculation superficielle, on pratique une inoculation intradermique dans une peau récemment épilée, les réactions observées ressemblent davantage encore à une plaque érysipélateuse. 1/10 de centi-

mètre cube de culture suffit pour déterminer en vingt-quatre heures l'apparition d'une plaque grande comme une pièce de cinq francs, rouge, chaude, tuméfiée, sail-lante, bordée par un véritable « talus » qui dessine un contour plus ou moins régulier. Le centre correspondant au point d'inoculation est pâle et blanchâtre, parfois même escarrotique dès le début. Dans les deux ou trois jours qui suivent, l'inflammation s'étend, mais là encore elle ne dépasse en aucun cas les limites de l'épilation : en même temps, la partie centrale de la plaque évolue vers la formation d'un petit abcès ou plus souvent vers la constitution d'une large escarre qui s'élimine en laissant une ulcération suppurante, lente à se combler. Cette forme de réaction ressemble davantage, on le voit, à l'érysipèle humain que la cellulite de l'oreille ; elle en est cependant fort distincte encore, car elle nécessite pour se produire, la sensibilisation préalable de la peau par l'épilation et se montre tout à fait incapable d'en-vahir de proche en proche la peau saine revêtue de ses poils.

Notons que l'inoculation intradermique est, chez le lapin, toujours beaucoup plus sévère que l'inoculation en surface : l'état général est toujours fortement touché, l'animal a de la fièvre et maigrit ; il n'est pas excep-tionnel qu'il succombe à une septicémie streptococcique dans les quatre à cinq jours qui suivent l'inoculation.

VARIABILITÉ DU POUVOIR PATHOGÈNE
DES STREPTOCOQUES VIS-A-VIS DE LA PEAU DU LAPIN

Telles sont les réactions-types obtenues par l'inoculation cutanée du streptocoque au lapin, et en se conformant aux conditions déjà connues de réceptivité de la peau. Mais il va sans dire que d'autres facteurs interviennent dans leur production ; ce sont, d'une part, le choix de l'animal, d'autre part et surtout, le choix de la souche de streptocoques.

Le choix de l'animal n'a pas ici l'importance que l'on pourrait croire. Sur plus de 60 lapins inoculés, soit dans les divers essais d'immunisation, soit pour éprouver la virulence de plusieurs souches de germes, 5 seulement, qui donnaient des réactions médiocres avec des souches virulentes pour d'autres animaux, durent être éliminés.

Par contre le choix de la souche de streptocoque a une importance considérable et le fait n'a rien qui puisse surprendre, si l'on prend connaissance des innombrables travaux parus sur la virulence de ce germe. Les relations entre le pouvoir pathogène chez l'homme et la virulence étudiée expérimentalement ont été très diversement interprétées par les auteurs ; niées par les uns (Sachs, Lüdke et Polano, Rolly, Floyd et Volbach, Burnet et Weissenbach, etc...) elles ont été admises par d'autres (Schultze, Henkel, Fromme et Heinemann, Barth, MacLeod, Holman, Hopkins etc...) d'autre part, les relations entre la virulence des streptocoques, soit pour l'animal,

soit pour l'homme, et leurs propriétés culturales ont donné lieu à des discussions aussi nombreuses. Dans cet ordre d'idées, ont été surtout étudiés le pouvoir hémolytique découvert par Marmorek, le pouvoir leucocidique, les caractères des cultures en bouillon et les propriétés fermentatives vis-à-vis des différents sucres. D'une façon générale les essais de classification des streptocoques ont été basés surtout sur leur pouvoir hémolytique (Andrewes et Horder, Schotmüller, Tissier, Levaditi) et très schématiquement on peut considérer qu'il en existe deux grands groupes ; l'un auquel reviennent en général les attributs suivants : pouvoir hémolytique, pouvoir pathogène chez l'homme, virulence chez l'animal ; et l'autre auquel manquent ces caractères. Il convient naturellement de laisser à cette formule la plus grande élasticité et de reconnaître qu'elle est commode, sans prétendre à aucune rigueur.

Les résultats des inoculations faites sur la peau du lapin à l'aide de divers streptocoques s'accordent d'une façon générale avec cette classification, mais ils ne permettent pas d'établir une loi plus précise. Trente souches des plus diverses ont été étudiées au point de vue de leur pouvoir pathogène cutané expérimental ; les résultats obtenus sont résumés dans le tableau ci-joint où le signe + indique une réaction érythémateuse simple, le signe ++ une réaction œdémateuse, le signe +++ une réaction œdémato-vésiculeuse. On peut voir que parmi toutes les souches de provenance humaine, celles qui sont douées d'un grand pouvoir pathogène pour l'homme sont habituellement susceptibles de déterminer une réaction

Pouvoir pathogène de quelques échantillons
de streptocoque pour la peau du lapin.

PROVENANCE DES GERMES ÉTUDIÉS	NOMBRE d'échantillons	POUVOIR hémolytique	RÉACTION CUTANÉE DU LAPIN
Pharynx de scarlatineux.....	5		O
—	2		+
Angine aiguë.....	1		++
—	1		+++
Erysipèle (germe d'hémoculture)	1	+	+++
—	2	+	O
Erysipèle (germe de la peau) ..	2		+++
Abcès divers.....	1		+++
—	5		O
Endocardite maligne.....	1	+	+++
Infection puerpérale.....	2	+	++
Méningite.....	1	+	+++
—	2	+	++
Pleurésie purulente.....	2	+	+++
Impetigo.....	2	O	O

Explication des signes indiquant la réaction cutanée :

+++ rougeur, œdème et vésico-pustules.

++ rougeur et œdème.

+ réaction érythémateuse simple.

O réaction nulle.

cutanée forte chez le lapin ; inversement les streptocoques prélevés dans le pharynx et probablement saprophytes se sont montrés en règle générale inactifs vis-à-vis de la peau du lapin. Cependant, divers streptocoques d'abcès n'ont donné aucun résultat chez le lapin et il en est de même de deux germes hémolytiques et particulièrement pathogènes pour l'homme. Enfin l'acclimatation des germes à la peau humaine n'a pas semblé avoir dans les expériences un rôle bien précis, puisqu'à la plupart des streptocoques d'érysipèle ont fourni des résultats positifs, deux streptocoques d'impétigo se sont révélés inactifs.

Il est important d'ajouter que l'un des streptocoques hémolytiques provenant d'une septicémie humaine et inoculé sans résultats locaux sur la peau de deux animaux a cependant déterminé chez l'un d'eux une infection générale mortelle ; d'autre part deux des germes qui avaient provoqué une réaction cutanée vive n'ont déterminé chez deux autres animaux aucun accident par voie intraveineuse à la dose de 1/2 centimètre cube de culture jeune. *Il en résulte qu'il n'existe pas de relation nécessaire entre le pouvoir pathogène local cutané d'un streptocoque chez le lapin et sa virulence, soit pour l'homme, soit pour le lapin même, par voie intraveineuse.*

* * *

Une autre difficulté de l'expérimentation avec le streptocoque réside dans la variabilité rapide de virulence d'un échantillon étudié. Il est très habituel qu'une

souche, virulente au départ, s'atténue peu à peu au fur et à mesure des repiquages successifs même sur milieu albumineux et arrive à ne plus donner sur la peau que des réactions atténuées. Il devient alors nécessaire d'effectuer un passage en injectant une dose mortelle à un lapin dans les veines ; l'ensemencement du sang du cœur fournit une culture dont la virulence est remontée en même temps que le pouvoir pathogène pour la peau. Il est important de savoir toutefois que cette méthode classique des passages successifs peut conduire à un écueil. Nous venons de voir à l'instant, que virulence et faculté de déterminer une lésion cutanée, bien que propriétés ordinairement connexes, ne sont pas identiques ; il n'est donc pas surprenant que ces propriétés puissent varier indépendamment l'une de l'autre : or, c'est précisément ce qu'on voit se produire à la faveur des passages successifs. Tandis que la virulence augmente chaque fois, s'exalte même à l'excès, les réactions cutanées obtenues vont en diminuant, si bien que l'on finit par obtenir un streptocoque très adapté à l'animal, dont l'application sur le tégument n'entraîne l'apparition d'aucune lésion locale cutanée, mais détermine plus ou moins rapidement une septicémie mortelle. L'interprétation de ce fait que plusieurs expériences ont démontré, ne repose peut-être pas sur une propriété particulière de végéter sur la peau que le germe aurait perdue peu à peu, mais plutôt sur l'exaltation même de sa virulence qui, par un phénomène d'anergie, sidère l'organisme et le met hors d'état de répondre à l'infection par une réaction locale. On verra plus loin en effet, que certaines réactions cutanées

déficiennes ne peuvent être expliquées que par un processus d'anergie ; d'autre part, l'étude de la pasteurellose a montré précédemment qu'un phénomène très analogue avait empêché au bout de deux ans de reproduire des expériences antérieures : la virulence de la souche avait pu être récupérée, mais non la propriété de déterminer des réactions locales.

On pouvait espérer accroître l'affinité cutanée d'un échantillon de streptocoques par passages successifs sur la peau. Dans ce but les vésico-pustules apparues ont été ensemencées et le germe ainsi obtenu et isolé a été cultivé en bouillon-ascite, puis de nouveau inoculé sur la peau. Ce procédé employé à plusieurs reprises n'a pas permis de conférer à l'échantillon étudié une aptitude spéciale à produire des lésions de la peau.

Il en résulte que, lorsqu'on possède un échantillon doué de propriétés convenables, il y a lieu de le conserver le plus longtemps possible en maintenant à la glacière la culture mère qui sert à pratiquer les repiquages successifs. Quelles que soient d'ailleurs les précautions prises, culture en milieu albumineux, addition de gélatine, emploi de tubes scellés, etc., la virulence de la culture finit par diminuer au bout d'un certain temps ; on doit avoir recours alors à un passage sur l'animal, mais ce procédé doit être employé aussi rarement que possible. Il est utile de connaître la part qui peut revenir au germe lui-même dans les variations des résultats expérimentaux afin de n'incriminer qu'à bon escient les modifications de réceptivité chez l'animal étudié.

ESSAI D'IMMUNISATION ANTISTREPTOCOCCIQUE DU LAPIN
PAR INOCULATIONS CUTANÉES

Parmi les souches de streptocoques expérimentées, deux ont été retenues pour les tentatives d'immunisation, en raison de la constance des réactions obtenues ; l'une (désignée dans les expériences par la lettre M) provenait d'une méningite. C'est elle qui a été surtout employée. L'autre (désignée par la lettre P), provenait d'une pleurésie purulente. Toutes deux étaient hémolytiques et très virulentes par voie générale.

Dix lapins ont été soumis à des inoculations cutanées successives dans le but de rechercher simultanément l'immunité tégumentaire et l'immunité générale. Les cultures employées étaient des cultures de vingt-quatre heures en bouillon-ascite et les inoculations furent pratiquées par badigeonnage sur la peau fraîchement épilée et rasée. Indépendamment des lésions cutanées observées, la recherche des propriétés humorales fut pratiquée chez presque tous ces animaux (9 sur 10) par la méthode de fixation du complément selon la technique de M. Nicolle (1).

1. Dans cette méthode, l'antigène microbien est constitué par une émulsion dans 20 centimètres cubes de sérum physiologique, de 1 centigramme de corps microbien provenant d'une culture sur gélose (pesés frais); cette émulsion est chauffée cinq minutes à 100° et employée à la dose fixe de 1 centimètre cube par tube.

On ajoute le complément de cobaye à la dose fixe de 1/10 de centimètre cube d'une dilution à 50 o/o.

Le sérum à expertiser, inactivé, est employé à la dose de 1/10 de

En outre ces animaux furent éprouvés par voie intra-dermique à l'aide d'une culture très virulente, au bout d'un certain nombre d'inoculations cutanées.

L'ensemble des résultats obtenus est assez complexe et ne peut être ramené à un schéma univoque. En se basant sur la présence ou l'absence d'anticorps dans les humeurs, on peut diviser ces expériences en deux groupes.

Chez cinq des animaux inoculés, les inoculations ont déterminé des réactions locales assez variables mais qui ont paru entraîner une certaine augmentation de la résistance générale. Ces animaux ont survécu et ont bien supporté l'inoculation d'épreuve intra-dermique. Leur sérum renfermait des sensibilisatrices en proportions inégales, il est vrai, à en juger par les résultats fortement ou légèrement positifs de la réaction de déviation du complément.

Voici d'ailleurs les protocoles résumés de ces expériences (les signes conventionnels des réactions locales sont les mêmes que ceux du précédent tableau) :

Lapin 28. — Reçoit du 19 avril au 18 juin 1923 12 inoculations cutanées de streptocoques.

19 avril (flanc droit), streptocoque M. Réaction.....	+++
26 avril (fesse gauche), —	++
2 mai (flanc gauche), —	+
7 mai (fesse droite), —	+++

centimètre cube de sérum pur, puis de dilutions progressivement croissantes pour chacun des tubes : 1/2, 1/5, 1/10, 1/20, etc.

Le système hémolytique est celui de la réaction de Wassermann type.

Le taux de la réaction quand elle est positive est indiqué par le chiffre de la dilution du sérum dans le premier tube où l'hémolyse n'a pas lieu.

12 mai (flanc gauche),	—	+++
16 mai (flanc droit),	—	+
21 mai (fesse droite), streptocoque M. (après un passage sur un lapin).....		+++
6 juin (épaule droite), streptocoque M. (après 2 ^e passage).....		+++
11 juin (flanc droit), streptocoque M. (incorporé à de l'axonge).....		O
15 juin (fesse gauche), streptocoque M.....		+

A cette même date la *réaction de fixation est fortement positive*, au 1/12.

18 juin (région dorsale), streptocoque P.....	+
---	---

Le 20 juin, inoculation intradermique de streptocoque M. qui détermine une violente réaction érysipélateuse, mais *l'animal survit*.

(Témoin : lapin 96 mort de septicémie à la suite d'une inoculation identique).

Lapin 62. — Reçoit 14 inoculations successives sur la peau du 19 avril au 18 juin 1923 (streptocoque M).

19 avril (fesse gauche).....	Réaction	+++
26 avril (région dorsale).....		++
30 avril (partie postérieure du flanc droit).....		+
2 mai (flanc gauche).....		+
7 mai (flanc droit près de l'inoculation du 23 avril).....		+

(à ce moment l'animal est très amaigri).

11 mai (flanc gauche), streptocoque P).....	+++
16 mai (épaule droite) —.....	++
21 mai (fesse droite), streptocoque M (après passage sur un lapin).....	++
26 mai (épaule gauche).....	+

(l'animal est de nouveau en très bon état).

6 juin (abdomen), streptocoque M (après 2 ^e passage sur un lapin).....	++
8 juin (fesse gauche inoculée le 19 avril).....	+
11 juin (région lombaire), germe incorporé à de l'axonge.	+ ?

14 juin. — *Recherche de la réaction de fixation qui est partiellement positive.*

18 juin (région dorsale moyenne), streptocoque M.....	++
20 juin. — Inoculation intradermique de streptocoque M (remonté par passage). Violente réaction sous forme d'une plaque érysipélateuse avec petit abcès au point d'inoculation. <i>L'animal survit.</i>	

Un lapin neuf témoin (lapin 96) ayant reçu la même inoculation intradermique offre une plaque érysipélateuse semblable

et qui régresse, mais l'animal meurt au bout de quatre jours de septicémie streptococcique.

Lapin 40. — Reçoit du 23 avril au 11 juin 1923, 6 inoculations cutanées de streptocoque M.

23 avril (flanc droit)..... +++

27 avril (région dorsale)..... +++

(Un abcès sous-cutané consécutif à la première inoculation oblige à abandonner l'animal pendant un certain temps).

21 mai (fesse droite) (après passage du germe dans l'organisme d'un lapin)..... + faible

25 mai (fesse gauche)..... + faible

6 juin (flanc droit) (après 2^e passage)..... ++

11 juin (région dorsale), germes incorporés à de l'axonge..... + faible

14 juin. — La réaction de fixation est partiellement positive.

18 juin. — Inoculation intradermique de streptocoque M. Réaction inflammatoire assez vive, mais qui aboutit à une résolution complète.

L'animal survit.

Lapin 65. — Reçoit 8 inoculations cutanées du 9 mai au 15 juin 1923.

9 mai (fesse droite), streptocoque M..... ++

16 mai (flanc gauche) — +++

21 mai (flanc droit) streptocoque M) (après passage sur un lapin)..... ++

23 mai (flanc droit). streptocoque P +++

1^{er} juin (fesse gauche) streptocoque M..... ++

11 juin (flanc gauche) — ++

15 juin (région dorsale) — ++

20 juin. — Inoculation intradermique de streptocoque M déterminant une plaque érysipélateuse avec une escarre centrale dans les jours qui suivent.

A la même date, réaction de fixation fortement positive. *L'animal survit.*

Lapin 68. — Reçoit du 16 mai au 25 juin 1923 à cinq reprises des inoculations cutanées de divers streptocoques.

16 mai (flanc droit), streptocoque d'endocardite..... +++

(fesse gauche), streptocoque M..... O

(fesse droite), streptocoque P..... ++

30 mai (plage nouvelle du flanc droit), même streptocoque d'endocardite (chute probable de la virulence)... O

6 juin (épaule droite), streptocoque M..... ++

18 juin (flanc gauche), streptocoque P.....	+++
(fesse droite inoculée le 16 mai et ayant repris un aspect normal), streptocoque P.....	+++
25 juin (région sacrée), streptocoque M.....	+++
(La réaction aboutit à un abcès).	

La réaction de fixation n'a pas été pratiquée dans le sérum de cet animal ; deux mois après, le 20 août 1923, une inoculation intradermique donna une réaction fortement positive. *L'animal a survécu.*

Dans l'autre groupe de cinq animaux, au contraire, si les réactions cutanées locales sont à première vue analogues à celles observées dans le groupe précédent, les réactions générales sont par contre diamétralement opposées. Ces animaux ont succombé, soit à l'injection intradermique d'épreuve, soit même sans que celle-ci fût pratiquée, de septicémie streptococcique. D'autre part la réaction de fixation a été complètement négative chez quatre d'entre eux, faiblement positive chez le cinquième. Voici les protocoles de ces expériences :

Lapin ♂. — Reçoit du 23 avril au 25 juin 1923, 12 inoculations cutanées de streptocoque M.

23 avril (fesse gauche).....	+
26 avril (fesse droite).....	+
2 mai (flanc droit).....	+++
12 mai (flanc gauche).....	++
16 mai (fesse gauche).....	+
21 mai (fesse droite).....	++
25 mai (flanc gauche au voisinage de la plage inoculée le 12 mai).....	+ faible
28 mai (flanc gauche, plage contiguë à la précédente).	+ faible
6 juin (flanc gauche, plage contiguë à la précédente).	O
8 juin (flanc droit, à distance des zones précédemment infectées).....	+ faible
11 juin (région dorsale), germe incorporé à de l'axonge.	O
Le 14 juin la Réaction de fixation est négative.	
25 juin (épaule gauche).....	++
Le 27 juin, inoculation intradermique de streptocoque M.	
Réaction assez vive.	

Mort de l'animal le 1^{er} juillet (septicémie streptococcique).

Lapin 14. — Reçoit 11 inoculations cutanées de streptocoque M. du 26 avril au 25 juin :

26 avril (flanc gauche).....	++	
2 mai (flanc gauche).....	+ faible	
11 mai (fesse gauche).....	+	
16 mai (fesse droite).....	+	
21 mai (flanc gauche) (après passage sur un lapin)...	++	
25 mai (épaule droite).....	+ faible	
1 ^{er} juin (flanc gauche).....	+	
6 juin (abdomen).....	+	
11 juin (flanc gauche).....	+ faible	
Le 14 juin la <i>La réaction de fixation est négative.</i>		
Le 25 juin (inoculation sur la région sacrée).....		++
<i>L'animal meurt le 2 juillet, de septicémie streptococcique.</i>		

Lapin 19. — Reçoit du 26 mai au 11 juin 1923, 9 inoculations cutanées de streptocoque :

26 mars (région dorsale), streptocoque d'infection puerpérale.....	+++
4 avril (région dorsale contiguë à la précédente) même souche.....	+
4 avril (région dorsale éloignée).....	+++
12 avril (flanc droit), même souche.....	+
7 mai (fesse droite), streptocoque M.....	+
16 mai (fesse gauche), —.....	+
25 mai (flanc gauche), streptocoque P.....	+++
6 juin (abdomen), streptocoque M. (après passage sur un lapin).....	+
8 juin (fesse droite).....	+
11 juin (abdomen), même souche incorporée à del'axonge. O	
Le 14 juin, la <i>réaction de fixation est faiblement positive.</i>	
Le 20, inoculation intradermique de streptocoque M., le lendemain infiltration nodulaire peu accusée.	
Le 27, nouvelle inoculation intradermique. Réaction médiocre.	
<i>Mort de l'animal le 30 juin de septicémie streptococcique.</i>	

Lapin 70. — Reçoit du 21 mai au 11 juin 1923, 6 inoculations cutanées et très rapprochées de streptocoque M.

21 mai (fesse droite) (échantillon cultivé après passage sur un lapin).....	++
25 mai (fesse gauche).....	++
28 mai (fesse droite sur une zone contiguë à celle inoculée le 21).....	+
6 juin (partie postérieure de flanc droit, surface contiguë	

à la précédente)(après deuxième passage sur le lapin). +++
 8 juin (flanc gauche), même souche. +++
 11 juin (région dorsale), germe incorporé à de l'axonge.. + ?

Le 14, la réaction de fixation est négative.

Le 19, l'animal meurt de septicémie streptococcique.

Lapin 76. — Reçoit du 25 mai au 11 juillet 1923, six inoculations cutanées de streptocoque.

25 mai (fesse droite), streptocoque M.....	+
1 ^{er} juin (fesse gauche) —	++
6 juin (épaule gauche) —	+
11 juin (flanc droit) —	+

21 juin. — Recherche de la réaction de fixation qui est négative.

25 juin (région sacrée).....	++
11 juillet (flanc gauche).....	O

Le 20 juillet, l'animal reçoit une injection intradermique de streptocoque M ; sa peau réagit médiocrement et il meurt le 25. (Dans cette expérience, l'ensemencement du sang du cœur n'a pas permis de retrouver le streptocoque).

Les premières conclusions qui se dégagent de ces expériences, celles même qui apparaissent le plus nettement sont relatives à l'immunisation générale. Les animaux du premier groupe ont, après de multiples inoculations cutanées, résisté à une inoculation intradermique particulièrement sévère. Cette inoculation a été pratiquée en effet avec un germe de virulence exaltée par deux passages successifs, et d'ailleurs elle a déterminé rapidement la mort de l'animal témoin. Il est donc bien évident que, chez ces animaux, s'est constitué un certain état réfractaire vis-à-vis du streptocoque. D'ailleurs chez tous, la recherche des anticorps par la méthode de déviation du complément a été plus ou moins fortement positive.

Chez les animaux du deuxième groupe, au contraire, rien de semblable ne s'est produit : trois d'entre eux ont

succombé comme l'animal témoin à l'inoculation intradermique d'épreuve, et les deux autres sont morts sans même que cette inoculation ait été pratiquée ; chez l'un il est vrai, le streptocoque n'a pas été retrouvé dans le sang du cœur, mais ce résultat douteux ne gêne pas l'appréciation de l'ensemble des autres. Chez quatre de ces animaux d'autre part, la réaction de fixation a été complètement négative, et chez un seulement faiblement positive. On peut donc affirmer que dans ce second groupe l'immunité générale a été complètement nulle.

Il est superflu de faire remarquer que dans tous ces cas, l'état réfractaire vis-à-vis d'une inoculation d'épreuve et la présence des anticorps dans les humeurs ont été très sensiblement concordants, puisque les quatre animaux dont le sérum donnait une réaction de fixation négative sont morts, tandis qu'un seul des autres a succombé et c'est précisément celui qui avait fourni le sérum le plus pauvre en anticorps. Ceci dit, les conclusions se dégagent d'elles-mêmes :

La méthode des inoculations cutanées successives de streptocoques permet, chez le lapin, d'obtenir dans un certain nombre de cas (une fois sur deux dans mes expériences) un degré non discutable d'immunité générale ; mais à peu près aussi souvent aucune immunité ne se constitue. Quand l'immunité relative est obtenue, elle s'accompagne de la présence d'anticorps dans les humeurs, et par conséquent ne diffère en rien de celle qui pouvait être réalisée par toute autre méthode.

La recherche de l'immunité tégumentaire a donné

des résultats beaucoup moins précis. Dans l'ensemble, l'état réfractaire de la peau n'est apparu nettement chez aucun animal et, les variations observées dans les résultats paraissent aussi capricieuses que la virulence des streptocoques, il y aurait imprudence à se baser sur un phénomène aussi peu stable. Les inoculations ont été pratiquées, on l'a vu, tantôt sur des surfaces cutanées fort éloignées, tantôt sur des surfaces rapprochées, voire même contiguës. Si, dans un cas, (lapin 19) une différence de réceptivité importante s'est révélée entre un territoire cutané voisin d'une surface précédemment inoculée et un territoire plus éloigné, dans un autre cas au contraire (lapin 70), aucun phénomène semblable ne fut noté. En supposant même qu'un territoire infecté puisse acquérir une immunité passagère, phénomène que nous savons indémontrable, il ne semble pas que cette immunité déborde en tache d'huile, même faiblement, sur le tégument voisin et il est tout à fait évident que, chez bon nombre d'animaux tout au moins, l'ensemble de la surface cutanée garde sa réceptivité entière. Il n'est pas moins net que l'état réfractaire local spécifique, si toutefois il existe, n'est pas de longue durée. Un certain nombre d'expériences ont montré, en effet, que des plages cutanées épilées et inoculées deux mois après une première inoculation, sont aussi réceptives que des plages cutanées neuves.

L'examen des séries de réactions permet pourtant dans certains cas d'entrevoir un fléchissement de la réceptivité cutanée, mais ce phénomène ne paraît avoir rien de commun avec l'immunité. Dans le premier groupe d'ani-

maux, en effet, à l'exception du lapin 40, la réceptivité cutanée demeure d'un bout à l'autre très sensiblement égale à elle-même et chez tous elle est fort grande. Dans le second groupe, au contraire, il semble que la sensibilité de la peau ait une tendance à fléchir : chez le lapin 4, cette diminution est très nette ; chez le 14 les réactions cutanées sont dès le début médiocres. Faut-il supposer que dans certains cas, tout au moins, le fléchissement de la réaction locale signifie ébauche d'immunité tégumentaire ? pareille interprétation serait bien singulière, car c'est précisément chez les animaux qui ne s'immunisent pas que se montre ce fléchissement, et il serait vraiment illogique d'attribuer à un même mode d'inoculation des propriétés contradictoires, tantôt le pouvoir de déterminer une immunité générale sans immunité de la peau, tantôt celui d'immuniser la peau sans conférer à l'organisme aucun état réfractaire.

Il y a tout lieu de supposer que dans le cas d'animaux partiellement ou nullement immunisés comme ceux des précédentes expériences, la réaction cutanée est fonction de la virulence du germe et de la résistance de l'animal. Dans la grande majorité des cas, en effet, on a vu que l'exaltation de la virulence par passage, permet d'obtenir à nouveau des réactions cutanées fortes chez des lapins dont la peau semblait devenue insensible. A virulence sensiblement égale d'autre part, les variations de résistance se manifestent aussi clairement dans la réceptivité cutanée : *Tel animal qui supporte les inoculations successives, voire même s'immunise partiellement offre indéfiniment des réactions cutanées fortes.*

Tel autre, au contraire, qui ne s'immunise pas, réagit de plus en plus faiblement aux inoculations cutanées; il ne tardera pas à succomber à une septicémie et bien souvent l'inoculation qui aura provoqué cette septicémie n'aura suscité aucune réaction locale.

Il semble donc qu'une réaction locale faible signifie, quand elle n'est pas imputable au germe lui-même que les moyens de défense de l'organisme sont défaillants et que cette défaillance est générale, atteignant aussi bien la défense cutanée locale que la défense humorale.

On pourrait, à cet égard, rapprocher ces faits expérimentaux des intradermo-réactions au streptocoque tué pratiquées chez l'homme. M. Levaditi (1) dans ses travaux sur les streptocoques des plaies de guerre a montré le parti qu'on pouvait tirer de cette épreuve; il a vu qu'un streptocoque tué provenant d'une souche virulente produisait avec une grande constance chez l'homme sain une réaction locale érythémato-papulcuse ou même vésiculeuse. La même inoculation faite à l'aide d'un germe tué avirulent ne produit rien de semblable. D'autre part, l'intradermo-réaction pratiquée avec une souche virulente tuée chez un blessé infecté par le streptocoque, détermine une réaction beaucoup plus faible, et d'autant plus faible que l'infection de l'organisme a un caractère plus grave. Pratiquée à plusieurs reprises chez un même sujet, la réaction locale tend généralement à diminuer : le streptocoque sensibiliserait l'organisme au lieu de l'immuniser et l'auteur nomme « ana-

1. Levaditi. *Le Streptocoque et les plaies de guerre*; *Travaux de l'ambulance de l'Océan*, Paris, Masson, 1918, t. II, fascicule I, p. 265.

plassie » cette diminution de la faculté de répondre, pour l'organisme à l'action excito-productrice de l'antigène. J'ai personnellement, lorsque j'étais interne de la Clinique des maladies infectieuses, eu l'occasion de pratiquer l'intradermo-réaction du streptocoque chez des malades atteints d'infection streptococcique grave et je l'ai toujours trouvée négative ou très faible.

Si chez l'homme qui ne s'immunise pas contre le streptocoque on observe quand l'organisme est infecté par ce germe une pareille baisse des facultés réactionnelles de la peau vis-à-vis de lui, il n'est pas surprenant que chez le lapin, animal de sensibilité aussi grande vis-à-vis du streptocoque, la diminution des réactions cutanées s'observe quand l'infection générale se produit, et il y a tout lieu de croire que ce fléchissement est dans ce cas aussi, attribuable à un phénomène d'« anaplassie ».

Quoi qu'il en soit, il est permis de dire que chez le lapin *des inoculations cutanées successives de streptocoques virulents parviennent inconstamment à engendrer un état réfractaire notable, mais ne déterminent aucune immunité de la peau*. Quant aux relations unissant l'intensité des réactions locales observées et l'immunité générale consécutive — lorsqu'elle existe — elles sont fort difficiles à établir. L'état réfractaire apparaît à la suite de réactions inflammatoires fortes et répétées, mais le rapport de causalité reliant les deux phénomènes semble pouvoir être conçu à volonté dans un sens ou dans l'autre : soit état réfractaire parce que réactions fortes, soit réactions fortes parce qu'animal résistant, susceptible de s'immuniser, du moins partiellement.

ACTION DE LA VACCINATION ANTISTREPTOCOCCIQUE
PAR VOIE GÉNÉRALE SUR LA RÉCEPTIVITÉ DE LA PEAU
L'ALLERGIE STREPTOCOCCIQUE

On sait que la vaccination du lapin contre le streptocoque a fait l'objet de tentatives multiples. Elle a été réalisée depuis longtemps, soit à l'aide de cultures vivantes, soit à l'aide de cultures stérilisées, par filtration ou chauffage (Roger, Behring, Lingelsheim, Mironoff). Dès le début l'inconstance des résultats obtenus frappe les expérimentateurs. Courmont et Rodet (1) reconnaissent que les cultures stérilisées sont capables de sensibiliser l'animal au lieu de le vacciner. Roger (2) pense que le meilleur procédé d'immunisation est l'emploi de cultures chauffées à 120°. Marmorek (3) qui s'est tout spécialement attaché à cette question, estime que les cultures chauffées à 58° ou filtrées sont plus actives mais que les meilleurs résultats sont obtenus avec des cultures vivantes, d'abord atténuées par vieillissement, puis de plus en plus virulentes. L'auteur prend soin de remarquer que dans tous les cas l'immunité obtenue demeure relative et ne saurait protéger l'animal contre une souche plus virulente que celle utilisée pour la vaccination. Beaucoup d'autres auteurs (Denys et Leclef (4),

1. Courmont et Rodet, *C. R. Biologie*, 1891.

2. Roger. Congrès de Bordeaux, 1895.

3. Marmorek, *Le Streptocoque et le sérum antistreptococcique (Annales de l'Institut Pasteur*, 1895, t. IX, p. 593).

4. Denys et Leclef, *la Cellule*, t. XI, 1^{er} fascicule.

Honoré van de Velde (1), Neufeld (2) etc.), n'ont pu que confirmer ultérieurement dans leur ensemble les résultats obtenus par Marmorek.

Quelle que soit la solidité de la vaccination obtenue par les méthodes classiques, ces procédés entraînent régulièrement l'apparition d'anticorps dans le sérum des animaux éprouvés et il y avait lieu de se demander quels pourraient être les effets de cette immunité humorale sur la réceptivité ultérieure de la peau.

Dans ce but 5 animaux subirent des inoculations successives de streptocoques tués par voie sous-cutanée ou intraveineuse et leur peau fut éprouvée au bout d'un mois à un mois et demi par application superficielle d'une culture virulente. Voici le protocole de trois de ces expériences :

Lapin 5. — L'animal reçoit sous la peau les doses suivantes de streptocoque (souche M) tués par l'alcool-éther et desséchés :

Le 4 juillet 1923	2 centigr.
Le 11 juillet 1923	2 —
Le 16 juillet 1923	4 —
Le 21 juillet 1923	2 —
Le 25 juillet 1923	3 —
Le 30 juillet 1923	2 —

Le 10 août, application de streptocoque M virulent sur la peau épilée et rasée : violente réaction en quarante-huit heures, avec rougeur, œdème, suintement et petites zones escarrotiques ; la réaction s'accuse encore dans les jours qui suivent et aboutit à plusieurs abcès sous-cutanés.

Lapin 55. — L'animal reçoit sous la peau 5 injections successives d'une émulsion de streptocoques (souche M) tués par chauffage d'une demi heure à 56 degrés.

Un centimètre cube de cette émulsion le 9 juillet 1923 ; même dose les 13, 18, 23 et 27 juillet.

1. Honoré van de Velde, *Annales I. P.*, 1896, t. X, p. 580.

2. Neufeld, *Zeitsch. f. Hyg.*, XLIX, fasc. 2, p. 161.

Le 10 août inoculation cutanée de streptocoque M selon la méthode habituelle : Réaction extrêmement violente le surlendemain avec œdème, rougeur intense, bulles purulentes et suintement aboutissant à un abcès collecté.

Lapin 56. — L'animal reçoit par voie intraveineuse 5 injections successives d'une émulsion de streptocoques (souche M) tués par chauffage d'une demi-heure à 56 degrés.

Un centimètre cube de cette émulsion le 9 juillet 1923.

Même dose les 13, 18, 23 et 27 juillet.

Le 10 août inoculation comme précédemment de streptocoque M sur la peau : Réaction très violente qui se termine sans production d'abcès.

Un lapin témoin (lapin 11) reçoit le même jour que les 3 animaux précédents une inoculation du même streptocoque sur la peau : il présente lui aussi une réaction extrêmement violente qui aboutit à la formation de plusieurs abcès ; l'animal devient paraplégique le 25 août et meurt le 28.

Les résultats parfaitement concordants de ces trois et identiques expériences et des deux autres non relatées prouvent donc que les méthodes classiques de vaccination par voie générale n'amènent aucun état réfractaire de la peau vis-à-vis du streptocoque et ils tendraient à faire supposer, conformément aux tendances actuelles, l'indépendance de la peau vis-à-vis de l'état réfractaire général, si nous ne savions que la vaccination par voie cutanée ne permet pas d'obtenir de meilleurs résultats.

Mais d'autre part, il apparaît dans certains cas que non seulement la vaccination par voie générale ne rend pas la peau réfractaire mais qu'elle est même susceptible de la sensibiliser. C'est ce qui résulte de l'expérience suivante :

Lapin A¹², 2750 grammes. — L'animal reçoit aux dates ci-dessous indiquées des inoculations sous-cutanées d'émulsion de streptocoques tués par chauffage une demi-heure à 56 degrés

(souche provenant d'un abcès virulente par voie générale et capable de produire localement de fortes réactions cutanées).

4 avril 1924	1 cmc.	d'émulsion sous la peau.
9 avril 1924	1 cmc. 1/2	
14 avril 1924	1 cmc. 1/2	(l'animal à de la diarrhée).
19 avril 1924	2 cmc.	(poids 2.600 gr.)
24 avril 1924	2 cmc.	

Le 26 avril, inoculation sur la peau épilée fraîchement d'une culture en bouillon-ascite de vingt-quatre heures.

Le 28, *réaction locale d'une extrême violence*: la peau est rouge, tuméfiée, couverte de vésicules confluentes et escarrifiée dans la partie centrale de la plaque; la guérison survient au prix d'une large perte de substance.

Le 1^{er} mai la réaction de fixation en présence d'un antigène microbien préparé avec le même germe est positive au 1/50.

Le 7 mai, l'animal ayant à peu près repris son poids (2.725 gr.), 1 centimètre cube de culture de streptocoque de vingt-quatre heures est inoculé par voie intraveineuse.

Un lapin témoin A⁶ pesant 1.900 grammes reçoit 0 cmc. 7 de la même culture par voie intraveineuse (donc dose identique proportionnellement au poids).

Le lapin témoin A⁶ meurt le 9.

Le lapin A¹² paraît d'abord résister mais il succombe le 12 mai.

Dans cette expérience on observe d'une part un état réfractaire général partiel mis en évidence par la réaction de fixation et l'augmentation de la résistance de l'animal vis-à-vis d'une inoculation d'épreuve massive; d'autre part une véritable sensibilisation de la peau. Ce dernier phénomène est indiscutable car l'échantillon de streptocoque utilisé, précédemment inoculé sur la peau de plusieurs lapins, n'avait permis d'observer que des réactions locales incomparablement moins fortes.

La vaccination par voie générale à l'aide de germes tués s'est donc montrée susceptible d'engendrer simul-

tanément une immunité générale fragile et une exagération de la sensibilité cutanée.

Ainsi l'étude de l'infection streptococcique chez le lapin conduit à penser, que dans les réactions de cet animal vis-à-vis de ce germe, interviennent des *phénomènes d'allergie* et que par eux sont expliquées bien des particularités, telle par exemple l'impossibilité d'obtenir l'immunité de la peau, quelle que soit la méthode employée. Au cours de l'infection pasteurellienne du cobaye en effet, maladie immunisante, l'état réfractaire de la peau apparaît tout naturellement comme un corollaire de l'immunité générale. Chez le lapin au contraire, pas plus que chez l'homme, l'infection streptococcique n'est capable d'entraîner une immunité solide ; par divers artifices, on arrive bien à augmenter un peu la résistance de l'animal vis-à-vis d'une inoculation d'épreuve ; mais la vaccination relative ainsi créée n'est qu'un état allergique complexe que conditionnent et l'accroissement des moyens de défense humoraux et la sensibilisation des tissus ; aussi l'état réfractaire de la peau ne survient-il pas, parce que l'état réfractaire de tout l'organisme ne peut pas être acquis. Est-ce à dire que l'immunité antistreptococcique demeure fort précaire parce qu'elle n'est pas une immunité tissulaire ? Le fait est très vraisemblable, mais il n'est pas moins évident que tous les moyens de vaccination paraissent échouer également et que la mise en contact du virus étudié avec la peau sensibilisée ne permet d'aboutir à **aucun résultat spécial (1)**.

1. Il y avait lieu de croire *a priori* que l'inoculation d'un sérum

* * *

Peu d'auteurs ont, jusqu'à présent, étudié les réactions de l'organisme consécutives à l'inoculation cutanée de cultures vivantes de streptocoque :

M. Frederick P. Gay (1) utilisant un streptocoque provenant d'une pleurésie purulente, et très virulent pour le lapin a montré que l'inoculation intraveineuse ou intrapleurale de ce germe n'amène pas, quand l'animal survit, l'immunité de la peau, ce qui est conforme aux données exposées ci-dessus ; mais le même auteur dit avoir observé une immunité de la peau et rien que de la peau consécutive à l'inoculation intradermique de ce germe. J'avoue n'avoir en aucun cas obtenu de résultats comparables : aussi je ne me sens pas autorisé à les discuter.

Par contre MM. Brocq-Rousseu, Forgeot et Urbain (2) ont obtenu chez le cobaye par voie cutanée une immunité générale qui ne paraît pas présenter de caractères aussi particuliers. Ces auteurs, étant en possession d'une souche de streptocoque d'origine équine,

antistreptococcique serait incapable d'entraîner l'insensibilité de tégument. Une expérience a démontré le bien fondé de cette supposition.

Le 14 mai 1924 le lapin A 17 reçoit par voie sous-cutanée 20 centimètres cubes de sérum antistreptococcique de l'Institut Pasteur. Sa peau est éprouvée le lendemain suivant la technique habituelle. Le 16, l'animal offre une réaction locale très vive, érythémato-vésiculaire. L'immunité passive de la peau est donc complètement nulle.

1. Frederick P. Gay, *On local and general immunity* (*Journal of Immunol.*, t. VIII, janvier 1923, p. 1-10).

2. Brocq-Rousseu, Forgeot et Urbain, *Vaccination contre le streptocoque par la voie cutanée* (*C. R. Biologie*, 23 juin 1923, t. LXXXIX, p. 219-220).

virulente pour le cobaye, ont essayé de vacciner cet animal par diverses voies. Ils ont obtenu avec une injection sous-cutanée de germes virulents à une dose voisine de la dose mortelle, l'immunisation de l'animal ; deux injections de culture atténuée sous la peau ne leur ont pas permis d'obtenir l'immunité ; par contre, en employant la voie intradermique, deux injections successives ont immunisé 3 animaux sur 5, et une seule inoculation, mais faite en de multiples points simultanément, « en nappe » selon le procédé de Besredka, a sept fois sur huit, entraîné l'immunité consécutive.

Ces expériences montrent que, chez le cobaye, animal d'ailleurs beaucoup moins sensible au streptocoque que le lapin, l'immunisation peut être obtenue facilement par la peau, et même que cette voie paraît présenter certains avantages. Les autres travaux publiés sur l'immunisation antistreptococcique par voie cutanée concernent l'emploi de filtrats de culture et à ce titre méritent d'être groupés avec un certain nombre d'expériences personnelles dans un paragraphe spécial.

RECHERCHE DE L'ACTION IMMUNISANTE
DES FILTRATS DE CULTURES DE STREPTOCOQUES
PAR VOIE CUTANÉE

L'idée d'employer comme procédé de vaccination les produits solubles contenus dans les bouillons de culture est contemporaine de l'étude des toxines microbiennes. Pour ce qui est du streptocoque, nous voyons Chantemesse, puis Manfredi et Traversa et Roger décrire les

phénomènes toxiques obtenus avec les produits de culture : fièvre et accidents nerveux, convulsions et paraplégies. Roger prépare à l'aide d'une culture semi-anaérobie de streptocoques datant de quinze jours un filtrat capable de tuer le lapin à dose de 13 à 20 centimètres cubes par kilogramme d'animal. Il individualise dans ces filtrats deux substances, l'une précipitable par l'alcool et qui augmente la réceptivité des animaux, l'autre non précipitable et qui possède des propriétés vaccinales. La chaleur lui permet la même distinction, et il constate qu'un filtrat de culture non chauffé, inoculé dans les veines, diminue la résistance de l'animal d'une façon durable, tandis que le même filtrat chauffé à 110 degrés, présente, quand il est injecté dans les veines, des propriétés vaccinales, bien qu'il soit devenu atoxique.

Marmorek obtient en cultivant le streptocoque sur un milieu particulier, un filtrat très toxique qui lui sert à la préparation d'un sérum. De très nombreux auteurs se sont dans la suite attachés à l'étude des toxines streptococciques et tout particulièrement des hémolysines mais ces travaux ne visant pas la recherche de l'immunité ne sauraient nous retenir ici.

Il faut arriver aux travaux tout récents de Besredka pour voir cette étude reprise d'une façon nouvelle.

Les recherches de cet auteur concernent le staphylocoque et le streptocoque ; il est nécessaire de les grouper, car elles sont superposables tant par les méthodes employées que par les résultats obtenus ; toutes furent pratiquées chez le cobaye à l'aide de cultures possé-

dant à l'égard de cet animal une virulence exceptionnelle.

Tout d'abord (1) l'auteur tente l'immunisation locale de la peau du cobaye à l'aide de cultures tuées ou de cultures filtrées d'un staphylocoque susceptible de déterminer, à la dose de 1 centimètre cube de culture en bouillon sous la peau, une violente réaction locale escarrotique et parfois mortelle.

Ces cultures ou ces filtrats furent inoculés sous la peau, dans la peau, ou sur la peau rasée du ventre, en pansement ; l'inoculation d'épreuve fut pratiquée sous la peau le lendemain, ou quelques jours après l'injection ou l'application protectrice. Dans presque tous les cas l'animal se montra immunisé, mieux par l'injection intra-dermique que par l'injection sous-cutanée, mieux encore par l'application du pansement protecteur, et cette immunité a pu être observée dès la vingt-quatrième heure.

Dans ce premier travail, il n'est pas fait mention de l'âge des cultures employées, mais un second mémoire est plus explicite (2). Une culture de staphylocoques virulents, âgée de 18 jours, devenue impropre à la culture d'un staphylocoque quelconque, est en effet capable de manifester son pouvoir *in vivo*. Ajoutée dans la proportion de 2 centimètres cubes à des staphylocoques vivants

1. Besredka, *Etude sur l'Immunité locale. Staphylocoque. Cuti-vaccination et cuti-immunité* (C. R. Biologie, 19 mai 1923, LXXXVIII, p. 1273).

2. Besredka, *Etude sur l'Immunité locale. Le pansement antistaphylococcique* (C. R. Biologie, 2 juin 1923, LXXXIX, p. 7).

et virulents, elle atténue dans une grande mesure la réaction inflammatoire produite par ceux-ci. Cette propriété est d'ailleurs thermostable, elle résiste à un chauffage à 120 degrés pendant vingt minutes, et elle est spécifique ; aucun autre filtrat n'étant capable de modifier la virulence du staphylocoque.

Injecté sous la peau, ce filtrat de culture a une action préventive très faible, plus faible encore dans le péritoine ; mais dans la peau, son pouvoir protecteur est grand, et d'autant plus que l'on multiplie davantage les points d'inoculation intra-dermique, en pratiquant ce que l'auteur nomme la « cuti-vaccination en nappe », un jour ou quelques jours avant l'inoculation d'épreuve du germe. Mais l'action protectrice optima est réalisée par le pansement cutané ; à la suite de cette application, l'animal résiste toujours à une dose mortelle : il ne présente pas de lésion, ou seulement une lésion locale.

Interprétant ces résultats, l'auteur conclut qu'il s'agit d'une véritable immunité locale des cellules de la peau et il l'attribue à une substance particulière, un « antivirüs » issu des corps microbiens et qui aurait, comme le virus lui-même, une affinité élective pour la peau.

Etudiant ensuite le streptocoque, MM. Besredka et Urbain (1) emploient une culture exceptionnellement virulente pour le cobaye, tuant un animal du poids de 400 grammes en moins de vingt-quatre heures à la dose de 2 centimètres cubes de culture en bouillon-sérum

1. Besredka et Urbain, *Etude sur l'Immunité locale. Le pansement antisreptococcique* (C. R. Biologie, 21 juil. 1913, LXXXIX, p. 506).

injecté sous la peau. Le filtrat employé est une culture en bouillon-sérum filtrée au bout de huit à dix jours d'étuve, puis réensemencée et filtrée une deuxième fois au bout d'un temps égal. Ce filtrat devenu impropre à la culture du streptocoque est appliqué en pansement sur la peau pendant vingt-quatre heures.

L'animal ainsi préparé résiste à l'inoculation cutanée du germe et ne présente aucune lésion. Il résiste d'autre part à l'inoculation sous-cutanée d'une dose mortelle pratiquée soit trois jours après, soit même dès le lendemain. Une telle rapidité d'immunisation excluait, d'après les auteurs, le concours des anticorps.

Le même filtrat, injecté sous la peau à la dose de 2 centimètres cubes et mélangé à une dose mortelle, soit 2 centimètres cubes de culture, exerce une action protectrice médiocre ; il préserve 1 cobaye sur 3 et retarde seulement la mort des deux autres. Injecté dans le péritoine, ce filtrat n'exerce aucune action protectrice, qu'il soit injecté seul, vingt-quatre heures avant l'inoculation de la culture, ou mélangé à de faibles doses de culture.

Revenant ultérieurement sur ces faits, M. Besredka (1), au cours de remarques générales sur le mécanisme de l'immunité locale, émet l'hypothèse suivante: la peau serait l'organe particulièrement sensible aux germes étudiés et l'on pourrait modifier sa réceptivité ; le traumatisme l'augmenterait, les filtrats de culture au contraire la diminueraient, opéreraient une véritable désensibilisa-

1. Besredka, *Quelques considérations sur le mécanisme de l'Immunité locale* (C. R. Biologie, 8 déc. 1923, LXXXIX, p. 1156).

tion préventive, et grâce à elle l'animal se trouverait immunisé.

Il m'a été impossible de reprendre les expériences de M. Besredka, ne disposant pas de souches de staphylocoques ou de streptocoques suffisamment virulentes pour le cobaye ; les renouveler eût d'ailleurs été inutile. J'ai seulement voulu voir si chez le lapin, animal dont les réactions vis-à-vis du streptocoque sont à bien des égards comparables à celle de l'homme, les filtrats de culture se montreraient doués de semblables propriétés vaccinales. J'ai, dans ce but, employé le streptocoque M, souche qui avait servi aux précédentes expériences. Les cultures, en bouillon peptoné ou en bouillon-ascite, étaient filtrées au bout de huit jours, puis ensemencées et filtrées à nouveau deux fois de suite, en sorte qu'elles étaient âgées d'au moins une vingtaine de jours au moment de l'emploi. Ces filtrats étaient devenus impropres au développement du streptocoque.

Quelle influence peut avoir sur la réceptivité cutanée un pareil filtrat inoculé *par voie intraveineuse* ? L'expérience suivante va le montrer.

Lapin A 20. — Reçoit par voie intraveineuse 7 injections successives de filtrat de culture de streptocoque en bouillon-ascite, datant de un mois :

22 mars 1923	2 centimètres cubes
27 —	4 —
3 avril	5 —
7 —	5 —
17 —	6 —
24 —	6 —
3 mai	6 —

Le 16 mai, il reçoit sur la peau épilée et rasée une culture de

streptocoque M : réaction très vive au bout de quarante-huit heures avec rougeur, infiltration et suintement.

Comme on pouvait s'y attendre, le filtrat de culture inoculé par cette voie ne diminue donc en aucune manière la réceptivité de la peau ; l'intensité de la réaction observée peut même faire croire à une véritable sensibilisation, comparable à celle qui suit les inoculations intra-veineuses de germes tués.

En injection sous-cutanée, le filtrat de culture streptococcique donne des résultats comparables ; témoin l'expérience suivante :

Lapin 85. — Reçoit 4 injections successives de filtrat de culture streptococcique sous la peau de l'abdomen.

12 novembre 1923	5 centimètres cubes
17 —	10 —
21 —	10 —
26 —	10 —

Le 30 novembre, l'animal est éprouvé et reçoit deux inoculations de streptocoque M virulent :

A. Sur la fesse droite, en injection intradermique.

B. Sur la fesse gauche, en inoculation cutanée.

Au bout de quarante-huit heures, on observe en A un nodule infiltré et rouge, en B, une *réaction intense*, peu infiltrée, mais offrant de nombreuses vésico-pustules.

Ainsi l'inoculation de filtrat de culture streptococcique par voie générale n'amène aucun état réfractaire de la peau et la sensibilise peut-être.

Il y avait lieu de se demander quels résultats donnerait l'inoculation cutanée.

Sept lapins reçurent le filtrat *par voie intradermique* et furent éprouvés au bout de vingt-quatre heures par une inoculation du germe virulent, pratiquée dans le derme sensiblement au même point. Trois de ces ani-

maux fournirent des résultats discordants : chez l'un, l'inoculation préalable de filtrat ne sembla diminuer en aucune manière la réceptivité à l'égard du germe ; chez les deux autres, le filtrat de streptocoques ne parut avoir que l'action banale d'un bouillon stérile inoculé de la même façon ; voici l'une de ces expériences :

Lapin 20. — Reçoit le 27 septembre 1923 trois inoculations intradermiques de streptocoque M.

A. Sur le flanc droit de l'abdomen épilé la veille et ayant reçu dans le derme 1 centimètre cube, 5 de bouillon ascite stérile.

B. Sur le flanc gauche du thorax épilé la veille, et ayant reçu 1 centimètre cube de filtrat de culture de streptocoque M, en bouillon ascite.

C. Sur le flanc gauche de l'abdomen simplement épilé la veille et n'ayant reçu aucune injection.

Le 28 septembre, l'animal offre en A comme en B un simple petit nodule de teinte ecchymotique très discret ; en C, au contraire, on voit une violente réaction avec infiltration et teinte ecchymotique étendue.

L'animal meurt le 1^{er} octobre de septicémie streptococcique.

Cette expérience s'accorde avec les faits signalés par A. Gratia (1) ; cet auteur a vu que l'injection de bouillon dans la peau détermine à elle seule un état réfractaire local relatif et non spécifique, qu'il attribue à la phagocytose plus active de la région ainsi traumatisée.

Mais indépendamment de ces cas où les filtrats de culture semblent agir d'une façon mécanique comme le ferait la plus banale substance étrangère, il est des faits plus nombreux où leur pouvoir protecteur paraît vraiment spécifique. Cette action a été mise en évidence chez 4 sur 7 des animaux expérimentés. Voici deux de ces expériences :

1. A. Gratia. Phagocytose et Immunité locale (*C. R. Biologie* LXXXIX, 1923, p. 826).

Lapin 27. Reçoit le 3 octobre 1923 trois inoculations intradermiques de streptocoque M sur trois régions différemment préparées.

A. sur le flanc droit du thorax ayant reçu quarante-huit heures auparavant 1 centimètre cube en injection intradermique de bouillon-ascite stérile.

B. Sur le flanc droit de l'abdomen ayant reçu quarante-huit heures auparavant 1 centimètre cube en injection intradermique d'un filtrat de culture de streptocoques en bouillon-ascite.

C. Sur le flanc gauche de l'abdomen simplement épilé deux jours auparavant.

Quarante-huit heures plus tard, on observe en A et en C un gros nodule inflammatoire qui ultérieurement s'abcède. En B au contraire, la réaction est complètement nulle.

Lapin 87. — Reçoit le 15 novembre 1923, 4 inoculations de streptocoque M dans le derme, sur des territoires de peau diversément préparés :

A. Sur une zone ayant reçu vingt-quatre heures auparavant par voie intradermique du filtrat de culture streptococcique chauffé à 110 degrés.

B. Sur une zone ayant reçu vingt-quatre heures auparavant dans le derme du filtrat de culture streptococcique chauffé une demi-heure à 56 degrés.

C. Sur une zone ayant reçu dans les mêmes conditions, du filtrat de culture non chauffé.

D. Sur une zone ayant reçu dans les mêmes conditions, une injection de bouillon ordinaire.

Quarante-huit heures après ces inoculations, on observe les résultats suivants :

En A : petit nodule inflammatoire.

En B : petit nodule inflammatoire avec infiltration assez nette, mais peu de rougeur et pas d'abcédation ultérieure.

En C : aucune réaction.

En D : gros nodule rouge inflammatoire qui se termine par l'abcédation.

Ces deux expériences, ainsi que deux autres tout à fait superposables, montrent que dans plus de la moitié des cas, les filtrats de vieilles cultures de streptocoques inoculés dans la peau sont doués d'un pouvoir protec-

teur spécifique contre une injection intradermique de streptocoques virulents faite vingt-quatre à quarante-huit heures plus tard. L'une d'elles (lapin 87) montre en outre que ce pouvoir protecteur est atténué, mais non détruit par le chauffage même à haute température. Il est probable qu'il s'agit là d'un fait tout à fait constant mais qui est masqué dans certains cas par une action d'ordre mécanique et non spécifique due au bouillon, et comparable à celle décrite par Gratia. En effet, l'inoculation intradermique d'une quantité importante de liquide, n'est pas complètement inoffensive ; elle détermine une boule d'œdème superficiel très tendue et la peau n'a pas toujours repris sa souplesse normale au moment de l'inoculation d'épreuve. Vingt-quatre ou quarante-huit heures plus tard, des phénomènes particuliers, peut-être une défense phagocytaire plus active, suivant l'hypothèse de Gratia, peuvent intervenir et troubler la netteté de l'expérience.

Rien de semblable n'est à craindre en employant le filtrat en *pansement cutané* selon la méthode de Besredka. Dans ces conditions, les résultats deviennent tout à fait constants.

Ce « pansement antimicrobien » peut-être réalisé facilement ; on applique sur une région de peau fraîchement épilée une compresse imbibée du filtrat et recouverte d'un imperméable ; le tout est maintenu en fixant l'imperméable aux poils environnants au moyen d'une couche épaisse de collodion. Pour éprouver les régions dorsale ou abdominale il vaut mieux employer un bandage que fixent deux bretelles enserrant le cou de l'ani-

mal ; cette technique est même la seule utilisable chez le cobaye.

Six lapins ont été éprouvés de cette manière ; l'un ne donna pas de résultats nets mais doit être éliminé, la zone témoin n'ayant pas réagi. Chez les cinq autres les résultats furent évidents et parfaitement concordants. Voici les protocoles de deux de ces expériences.

Lapin 53. — Le 12 octobre 1923 : application d'un pansement au filtrat de culture streptococcique sur le flanc droit fraîchement épilé et rasé. Epilation et rasage du flanc gauche sans application de pansement.

Le 13, nouveau rasage des deux zones et application d'une culture de streptocoque M.

Le 17 : Réaction nulle sur le flanc droit. Placard rouge, œdémateux et infiltré sur le flanc gauche. L'animal meurt le 20 octobre de septicémie streptococcique.

Lapin 93. — Le 23 novembre 1923 : application sur la peau épilée et rasée de deux pansements.

A) Sur la région scapulaire droite : pansement au bouillon stérile.

B) Sur la région scapulaire gauche : pansement au filtrat de culture streptococcique.

Le 24 : application de streptocoque M sur les 2 zones.

Le 25, on observe en A une réaction positive, rouge et œdémateuse qui augmente encore le lendemain ; en B la réaction est nulle.

Il est à noter d'ailleurs que les deux régions inoculées sont contiguës le long de la ligne médiane dorsale.

On peut conclure que les inoculations cutanées de filtrats de culture de streptocoque pratiquées soit en pansement, soit en injection intradermique transmettent au lapin un état réfractaire vis-à-vis du streptocoque du territoire cutané ainsi préparé. Cet état réfractaire s'établit avec une grande rapidité et devient manifeste au bout de vingt-quatre heures. Mais, dans tous les cas,

il se montre rigoureusement localisé à la zone soumise à l'action du filtrat protecteur et n'intéresse jamais l'ensemble du tégument. On a vu, en effet, que la zone témoin prise chez le même animal et épilée au même moment que la zone soumise à l'action du filtrat était réceptive comme la peau d'un animal neuf. Dans la dernière expérience même (lapin 93) les deux zones étaient contiguës et l'état réfractaire ne s'est pas étendu de l'une à l'autre.

Il est superflu de mentionner que la réceptivité générale du lapin n'est pas modifiée par cette application de filtrat; un bon nombre des animaux expérimentés en effet, ont succombé à l'inoculation d'épreuve : le fait n'est pas surprenant chez un animal aussi difficile à rendre réfractaire que le lapin. On ne peut d'ailleurs même pas espérer que le filtrat de culture protège localement cet animal contre une inoculation sévère; c'est ainsi que la lésion de l'oreille, dite érysipèle expérimental, n'est pas entravée par leur emploi, ainsi qu'il résulte de l'expérience suivante :

Lapin 19. — L'animal reçoit le 16 novembre 1923 une injection intradermique et sous-cutanée de filtrat de culture de streptocoque dans l'oreille droite et de bouillon ordinaire dans l'oreille gauche.

Le lendemain 17 novembre, est pratiquée à peu près au même point, dans les deux oreilles une inoculation sous-cutanée de streptocoque M.

Le 19, les lésions sont bilatérales : les deux oreilles sont chaudes, douloureuses, œdématisées, pendantes; les phénomènes semblaient seulement un peu plus accusés pour l'oreille gauche, mais aucune distinction n'est plus possible les jours suivants.

Le 30, l'animal étant à peu près guéri, présente aux deux oreilles un volumineux œdème éléphantiasique.

Il est à noter que cet animal, guéri de cette importante lésion locale, n'a présenté dans la suite aucune immunité cutanée ni générale. Inoculé le 30 novembre par voie intradermique et superficielle, il présenta de violentes réactions inflammatoires et mourut de septicémie streptococcique.

Cette expérience est volontairement disjointe des épreuves d'inoculation intradermique. Une inoculation dans le derme de l'oreille ne demeure en effet jamais rigoureusement locale; elle diffuse rapidement dans le tissu cellulaire de cette région et l'on assiste à l'apparition d'une lymphangite et d'une cellulite massive. Contre pareille lésion, le filtrat de culture, même en inoculation locale préventive, n'agit pas. On voit donc que son action protectrice est, chez le lapin, très précaire et qu'il faut la limiter à la peau impressionnée par ce produit. *C'est une immunité locale et locale dans son sens le plus rigoureux et le plus étroit.*

Quoi qu'il en soit, les résultats des expériences faites sur le lapin et qui viennent d'être relatées s'accordent dans une certaine mesure avec ceux que M. Besredka a obtenus chez le cobaye. Il est probable que les différences qui les séparent tiennent aux différences de sensibilité des animaux étudiés vis-à-vis du même germe. Chez le cobaye moins sensible et sans doute plus facilement immunisable, l'action protectrice des filtrats ne se cantonne pas au lieu d'application. Chez le lapin l'état réfractaire obtenu est seulement parcellaire, mais il n'est sans intérêt d'ailleurs de l'enregistrer, puisqu'aucun autre procédé n'avait, jusqu'à maintenant, permis de le mettre en évidence.

Quel est le mécanisme de l'immunité ainsi obtenue, et quelle est aussi sa signification ? Telles sont les questions qui se posent sans pouvoir être encore entièrement résolues. M. Besredka, ayant d'abord émis l'hypothèse d'un « antiviral » présent dans les milieux où a longtemps végété le microbe, et doué comme lui d'une affinité cutanée, renonça bientôt à cette explication. Entraîné par les conclusions auxquelles l'avait mené l'étude du charbon, ce savant considéra qu'il devait s'agir d'une immunité active tissulaire de la peau, d'une « cuti-immunité » en tous points semblable à celle produite par un virus atténué, inoculé dans les mêmes conditions.

L'hypothèse d'un « antiviral » est évidemment la première qui se présente à l'esprit et il est naturel de penser que cette substance hypothétique, déposée sur une peau dont l'épilation a facilité le pouvoir absorbant, imprègne ce tissu très rapidement, engendrant ainsi une véritable immunité passive ; tout se passerait donc comme si le « principe », qui rend le milieu impropre à la culture du germe se fixait sur les cellules de la peau mises à son contact ; le fait paraît d'autant plus admissible que l'état réfractaire obtenu est réalisé très rapidement, en moins de vingt-quatre heures.

Cependant cette hypothèse peut difficilement être retenue, et pour trois raisons : Tout d'abord, si les filtrats de culture sont bien devenus impropres au développement du germe qui s'y est multiplié ou d'un autre échantillon de même espèce, leur « vaccination » plus apparente que réelle, semble due, non à la présence d'une

substance empêchante, mais à la carence d'un produit inconnu épuisé par le microbe. En ensemençant avec des streptocoques une série de tubes contenant le filtrat étudié, mais que l'on additionne de quantités progressivement croissantes de bouillon, on voit en effet que la moindre trace ajoutée permet le développement des germes, et qu'avec une goutte ou deux de bouillon par centimètre cube de filtrat, la pullulation s'opère comme dans un milieu neuf.

En second lieu, il n'est pas nécessaire que les filtrats, pour être actifs *in vivo*, soient devenus complètement impropres à tout développement microbien; l'expérience le montre aisément.

Entin le filtrat, s'il était doué d'un pouvoir empêchant spécifique, devrait agir aussi bien par son mélange extemporané avec la culture que s'il est inoculé avant elle. Or il n'en est rien : quelques expériences signalent bien, surtout en ce qui concerne le staphylocoque, la diminution des réactions inflammatoires observées quand on inocule les germes mélangés au filtrat, mais cette méthode n'a pas permis de neutraliser une seule dose mortelle de streptocoques. Pour agir nettement, le filtrat doit être inoculé avant le germe.

Il y a donc tout lieu de croire, malgré la rapidité de l'état réfractaire obtenu, que les filtrats agissent comme un véritable vaccin, par l'intermédiaire des produits microbiens solubles qu'ils renferment. Selon la deuxième hypothèse envisagée, les cellules de la peau, mises à leur contact, acquièrent dans un délai très bref, une immunité

active. Cette conception s'accorde évidemment mal avec les données classiques, mais elle paraît actuellement la plus satisfaisante.

En ce qui concerne les expériences personnelles faites sur le lapin, il n'y a pas lieu de chercher le rôle de l'immunité locale ainsi réalisée ; en effet, ni l'organisme de l'animal, ni l'ensemble de son revêtement cutané n'en bénéficient, puisque nous savons que l'état réfractaire obtenu demeure rigoureusement cantonné au territoire soumis à l'action du filtrat.

Mais M. Besredka, se basant sur les faits observés chez le cobaye, qui, à la suite d'une application cutanée de filtrat, se comporte comme s'il était doué d'une certaine immunité générale, voit dans la seule immunisation de la peau la raison suffisante de son état réfractaire. Cet auteur en donne pour preuve la rapidité même de la vaccination obtenue qui exclut le concours des anticorps.

Je ne puis, bien entendu, discuter sans le secours d'expériences pareille interprétation, mais il est permis toutefois de remarquer que la conception de M. Besredka suppose admises : d'abord la sensibilité non pas seulement élective mais exclusive de la peau du cobaye vis-à-vis du streptocoque ; ensuite la possibilité de l'extension d'une immunité parcellaire de la peau à tout le territoire cutané sans participation de l'organisme. Quant à l'absence des anticorps, il semble, ainsi qu'il en sera discuté ultérieurement, et comme nous l'avons déjà vu à propos de la pasteurellose, qu'elle ne puisse empêcher de concevoir une immunité de nature générale.

Les filtrats de cultures, aussi bien que les cultures tuées ou atténuées de streptocoques et de staphylocoques en applications cutanées, semblent bien avoir permis aux expérimentateurs qui les ont utilisés, d'obtenir des résultats supérieurs aux autres méthodes de vaccination, chez le cobaye tout au moins. Mais, on peut se demander si l'état réfractaire ainsi réalisé, qui a les apparences d'une immunité générale, ne ressort pas de celle-ci, et si la pénétration dans l'organisme, à travers le tégument, des produits microbiens solubles, n'en est pas la véritable source.

Par quel mécanisme la peau favoriserait-elle l'action de ces produits ? Nous l'ignorons encore, mais il vaut peut-être mieux accepter une incertitude que considérer *a priori* l'immunité acquise de quelques cellules de la peau comme responsable de l'immunité d'un organisme entier.

LA VACCINATION ANTISTREPTOCOCCIQUE.
COMPARAISON DES DONNÉES DE L'EXPÉRIMENTATION
ET DE LA CLINIQUE

Les résultats expérimentaux fournis par l'infection streptococcique du lapin et par les essais d'immunisation de cet animal vis-à-vis de ce germe n'ont pas seulement un intérêt doctrinal. Ils permettent aussi des déductions d'ordre pratique qui, malheureusement, sont assez décevantes.

On a vu en effet, que dans plusieurs cas, les données de la clinique s'accordaient avec les faits expérimen-

taux observés chez le lapin. La même absence d'immunité solide, consécutive à l'infection, s'observe chez cet animal et chez l'homme ; les mêmes processus d'ordre anergique ou allergique peuvent expliquer dans les deux cas, les particularités de certains phénomènes locaux observés. Cette ressemblance ressort tout particulièrement lorsqu'on étudie les travaux de M. Levaditi sur l'infection streptococcique des blessés de guerre et les résultats qu'a fournis à cet auteur la pratique des intradermo-réactions. Mais les observations cliniques les plus courantes, montrent aussi le parallélisme entre l'infection streptococcique de l'homme et celle du lapin. Non seulement les infections streptococciques profondes, les septicémies, ne sont suivies, lorsqu'elles guérissent, d'aucun état réfractaire, mais l'immunité ne se montre pas davantage à la suite des infections localisées à la peau, l'impétigo de Tilbury Fox et surtout l'érysipèle qui devraient réaliser automatiquement la « cuti-immunité » protectrice si cette dernière pouvait exister. Or justement ces deux affections comptent parmi les plus récidivantes et prouvent que l'infection de la peau chez l'homme n'entraîne pas davantage que chez le lapin d'immunité locale ni générale. L'ensemble de ces données expérimentales et cliniques ne permet pas *a priori* de fonder beaucoup d'espoir sur l'emploi des vaccins streptococciques, soit comme méthode préventive, soit comme méthode curative chez l'homme. C'est d'ailleurs ce que les essais thérapeutiques ont à peu près démontré. L'inoculation à l'homme de streptocoques tués, par voie sous cutanée, n'a donné que des résultats fort peu

encourageants, qu'il s'agisse d'auto-vaccins ou d'hétéro-vaccins. MM. Boidin et Delafontaine, (1) ayant essayé ce procédé à titre préventif chez de nombreux malades atteints d'érysipèle à rechutes, n'ont enregistré que des insuccès. Le bouillon de Delbet a permis à beaucoup de chirurgiens, il est vrai, d'obtenir de bons résultats dans la thérapeutique d'infections locales ; mais on sait que ce vaccin est polyvalent : le rôle joué par le streptocoque n'y est donc pas démontré. Restent à envisager les récentes applications faites à la thérapeutique de la vaccination locale.

Mlle Bass (2) a enregistré de bons résultats dans un certain nombre de cas chirurgicaux (ostéites, abcès, plaies fistulisées, infections secondaires de néoplasmes ou d'ulcères variqueux) en appliquant des pansements anti-microbiens préparés avec des cultures filtrées du germe du malade ou d'un germe hétérogène. Contre les infections secondaires des néoplasmes, particulièrement du col utérin, les pansements locaux, faits avec un auto-vaccin tué, ont permis également à MM. S. Mutermilch et Lavedan (3) d'obtenir une désinfection rapide alors que les mêmes auteurs n'ont rien obtenu de l'emploi de ces auto-vaccins par voie sous-cutanée.

Plus récemment MM. Levy-Solal, Simard et Leloup (4)

1. Boidin et Delafontaine, Société médicale des hôpitaux, 6 mai 1921.

2. A. Bass, de la vaccinothérapie au moyen des pansements d'origine microbienne (*C. R. Biologie*, 30 juin 1923, LXXXIX, p. 287).

A. Bass, Soupault et Brouet, *Presse médicale*, 16 janvier 1924, p. 48.

3. S. Mutermilch et Lavedan, *C. R. Biologie*, 1923, LXXXIX, p. 291.

4. Levy-Solal, Simard et Leloup, *Traitement de l'infection puerpé-*

ont rapporté un cas d'infection puerpérale au quatrième jour, guéri par un tamponnement utérin avec un pansement imbibé de culture de streptocoque filtrée.

Sans parler des coïncidences possibles qui risquent toujours, dans une série d'observations, d'atténuer la valeur des résultats, il semble que les filtrats de cultures ou les cultures en bouillon stérilisées aient donné quelques résultats thérapeutiques heureux et que de semblables essais doivent être poursuivis. La valeur curative de ces produits est cependant fort difficile à comprendre, étant donné qu'ils ne possèdent *in vitro* aucun pouvoir microbicide, et il n'est pas démontré d'autre part qu'il s'agisse bien d'une vaccino thérapie. En tous cas, la méthode a l'avantage de n'offrir aucun danger.

Il en va autrement des cultures tuées ou filtrées inoculées par voie générale. Bien que MM. Levy-Solal, Simard et Leloup conseillent l'injection intraveineuse de pareille culture en cas d'infection puerpérale avec péritonite ou septicémie, je crois que semblable procédé, à peu près sûrement inefficace, n'est pas exempt de danger en raison de la sensibilisation locale qu'il est susceptible de déterminer. L'expérimentation faite sur le lapin démontre ce phénomène ; or les réactions biologiques de cet animal vis-à-vis du streptocoque ressemblent trop à celles de l'homme pour qu'on puisse les négliger en clinique.

rale par un filtrat de culture en bouillon de streptocoques (C. R. Biologie, 23 février 1924, XC n° 7, p. 483).

CHAPITRE IV

ROLE DE LA PEAU DANS L'INFECTION CHARBONNEUSE DU COBAYE L'IMMUNITÉ ANTICHARBONNEUSE NE PEUT ÊTRE UNE IMMUNITÉ LOCALE

Les résultats des recherches exposées précédemment devaient m'entraîner, après bien des auteurs, à tenter des expériences analogues avec la bactériidie charbonneuse. On a vu en effet que ce sont précisément les premiers travaux de M. Besredka sur le charbon, et l'apparente discordance de leurs résultats avec ceux des recherches exposées plus haut sur une pasteurellose, autre affection septicémique, qui m'ont orienté vers l'étude de l'infection et de l'immunité par voie cutanée. On sait d'ailleurs, que les doctrines récentes des affinités tissulaires et de l'immunité locale reposent en partie sur le charbon, si bien que le microbe le plus anciennement connu, est, contre toute attente, devenu l'objet de nombreuses recherches actuelles.

Les travaux consacrés depuis Pasteur à l'étude de la bactériidie charbonneuse n'ayant pas, jusqu'à ces toutes dernières années, envisagé le rôle de la peau dans cette infection, il suffira de donner un aperçu des notions acquises susceptibles de nous servir dans le présent tra-

vail. Les voies naturelles d'introduction du charbon dans l'organisme, admises par les auteurs, sont la voie cutanée et la voie pulmonaire (surtout observées chez l'homme), enfin la voie digestive, démontrée par Pasteur et qui rend compte de la plupart des cas de charbon spontané observés chez l'animal. Rappelons encore que nombre de bactériologistes ont reconnu que les diverses méthodes expérimentales d'introduction du germe chez l'animal ne déterminent pas toutes aussi facilement l'infection, et d'autre part que, si les grands animaux se laissent vacciner facilement par la méthode pastoriennne, il n'en est pas de même des animaux de laboratoire sensibles à l'infection : lapins, cobayes, souris.

Dans le premier ordre d'idées, nous voyons la voie trachéale discutée par plusieurs auteurs; certains (Buchner (1), Wyssokowitsch) (2) obtiennent par cette méthode l'infection charbonneuse; d'autres (Morse (3), Hildebrandt) (4) échouent. Pareillement l'infection par voie conjonctivale est admise par certains bactériologistes (Rœmer (5) Meyer) (6) et niée par d'autres (Braunschweig) (7). Nombre d'expérimentateurs signalent la difficulté d'infecter le cobaye et le lapin par voie digestive et Uffenheimer (8) montre que, chez ces animaux, les bactériidies qui franchissent l'estomac sont rapidement

1. Buchner, *Munch méd. Woch.*, 1887.

2. Wyssokowitsch, *Fortschr. der Medizin.*, 1889.

3. Morse, *Inaug. Diss.* Berlin, 1881.

4. Hildebrandt, *Beiträge z. Pathol. Anat. u. Physiol. von Ziegler et Nauwerck.*

5. Rœmer, *Zeit. f. Hygien.* XXXII, 1889, p. 295.

6. Meyer, *Munch méd. Woch.*, 1900, n° 51, p. 1169.

7. Braunschweig, *Fortschr. der. Mediz.*, 1889, n° 24.

8. Uffenheimer, *Arch. f. Hygien.*, LV, 1906.

détruites dans le milieu intestinal. Faits plus intéressants encore, Nøtzel (1) en 1898 et Van Leent (2) en 1900 établissent que les animaux de laboratoire sont moins sensibles à l'inoculation intraveineuse et intrapéritonéale qu'à l'inoculation dans le tissu cellulaire. Roger et Garnier (3) concluaient de leurs recherches en 1905 qu'il est possible d'inoculer, sans infecter l'animal, le virus dans la veine porte et dans la rate.

En ce qui concerne la vaccination, presque tous les auteurs soulignent la difficulté d'immuniser le lapin et le cobaye en employant les deux vaccins successifs selon la méthode pastorienne :

Koch, Gaffky et Loeffler (4) en 1884 ne purent, par ce procédé, immuniser ni le cobaye, ni le lapin, ni la souris.

Roux et Chamberland (5) cependant en 1882, sont parvenus à immuniser des lapins en leur injectant une grosse dose de premier vaccin dans les veines, puis le deuxième vaccin sous la peau.

Marchoux (6) en 1895 et de Nittis (7) en 1904, ont également obtenu l'immunisation des lapins.

Marino (8) en 1912, a échoué dans des tentatives semblables. Mais, dans aucun des travaux anciens, l'inoculation de la peau en surface n'a été employée comme méthode d'infection ou d'immunisation.

1. Nøtzel, *Arch. für Klin. Chir.*, LVII, 1898.
2. Van Leent, *Centr. f. Bakt.*, XXVIII, 1900.
3. Roger et Garnier, *C. R. Biologie*, 1905, p. 863.
4. Koch, Gaffky et Loeffler, *Mitteil. a. d. Kais. Ges. Amt.*, I, 1884 et II, 1884.
5. Roux et Chamberland, *C. R. Acad. des Sciences*, XCI, 1882.
6. Marchoux, *Annales I. P.*, 1895, p. 785.
7. De Nittis, *Annales I. P.*, 1901.
8. Marino, *C. R. Biologie*, 18 février 1912.

C'est en 1920 que M. Besredka (1) montre pour la première fois l'intérêt de ce procédé ; une application de virus ou de deuxième vaccin, dit cet auteur, sur la peau du cobaye rasée le tue constamment ; mais une application de premier vaccin détermine seulement une réaction inflammatoire durant de quatre à six jours ; l'animal résiste ensuite, soit en application sur la peau, soit en injection sous-cutanée, à une inoculation de deuxième vaccin puis de virus non atténué. Par cette méthode il devient donc très facile d'immuniser le cobaye. Le lapin s'immunise aussi bien, sinon mieux, car parfois il résiste dès le début à une inoculation sur la peau de deuxième vaccin, voire de virus pur.

Ultérieurement M. Besredka, qui avait d'autre part étudié l'infection et l'immunisation par voie digestive vis-à-vis des germes du groupe typhique ou dysentérique, fut amené à une interprétation particulière de l'immunisation par voie cutanée ; il supposa que la peau était douée vis-à-vis du charbon d'une sensibilité toute spéciale et que cette sensibilité allait de pair avec son rôle dans l'immunité.

Dans un travail paru en 1921 (2), cet auteur donne la technique détaillée de l'immunisation du cobaye et du lapin par la voie cutanée et par la voie intradermique ;

1. A. Besredka, *Vaccination contre le charbon par voie cutanée* (*C. R. Biol.*, LXXXIII, 29 mai 1920, p. 769).

2. A. Besredka, *Vaccination par voie cutanée. Charbon : Cuti-infection, Cuti-vaccination. Cuti-immunité* (*Annales I. P.*, 1921, XXXV, n° 7, p. 421 et suivantes). Voir aussi : A. Besredka, *De l'immunité locale* (*Bulletin I. P.* XXII, 31 mars 1924, p. 217 et suivantes) ; A. Besredka et Y. de Trévisé (*Annales Institut Pasteur*, XXXVI, 1922, n° 7, p. 562).

cette dernière méthode fournit des résultats tout aussi bons; au prix d'une réaction locale violente, escharrotique, survenue lors de la première injection de premier vaccin, l'animal acquiert une immunité solide vis-à-vis du premier, puis du deuxième vaccin, puis du virus non atténué. En un mois environ, on peut lui conférer à l'aide d'inoculations successives des deux vaccins et du virus un état réfractaire complet vis-à-vis d'une inoculation faite par n'importe quelle voie. Or, le sérum de ces animaux ne se montre doué d'aucun pouvoir préventif, ce qui exclut, dans l'immunité ainsi obtenue, l'intervention des anticorps.

Voici donc une forme particulière d'immunité générale de l'organisme, un état réfractaire total de tous les tissus, auquel les humeurs ne paraissent pas prendre part. Pour l'expliquer, M. Besredka a recours à deux hypothèses étroitement connexes : hypothèse d'une immunité locale du tégument, indépendante de l'organisme, et hypothèse d'une sensibilité exclusive du tégument vis-à-vis de l'infection charbonneuse. On conçoit facilement que la première n'est acceptable que si la seconde est démontrée exacte. L'immunité locale de la peau en effet, ne saurait déterminer l'état réfractaire de l'organisme que si la peau est le seul organe sensible. Sur cette dernière proposition repose donc tout l'édifice et c'est elle que l'auteur va s'attacher à mettre en évidence.

Toute inoculation de virus, dit M. Besredka, détermine l'infection par la contamination de la peau : toute inoculation cutanée entraîne en effet un œdème siégeant autour

du point de pénétration de l'aiguille et cet œdème serait le témoin de l'ensemencement de la peau. Si l'on prend soin de ne pas souiller la peau, on peut inoculer chez le apin et le cobaye, dans le péritoine ou dans les veines, des doses considérables de virus sans que l'infection se produise. Plusieurs expériences démontrent ce phénomène. L'auteur n'explique d'ailleurs pas avec détails la méthode employée pour éviter de souiller la peau ; il préconise seulement l'emploi d'une fine aiguille et la cautérisation au thermocautère du point de pénétration. Quand l'opération est défectueuse, on en est averti par l'apparition d'un œdème caractéristique autour de la piqûre, et dans ces cas seulement l'infection se généralise.

Ces recherches conduisent à admettre que l'organisme du cobaye ou du lapin est naturellement réfractaire au charbon. Le seul tissu vulnérable est le tégument, compris d'ailleurs dans son sens le plus large, en lui adjoignant le tissu cellulaire sous-jacent. Dès lors l'hypothèse de l'immunité locale repose sur une base solide, puisque son existence suffit à expliquer l'état réfractaire de l'organisme tout entier. Un fait tendrait encore à l'étayer, c'est que les animaux inoculés sans dommage avec une dose considérable de virus charbonneux dans la trachée, dans les veines ou dans le péritoine, n'ont acquis aucune espèce d'immunité ; ils succombent régulièrement à l'inoculation d'une faible dose de virus dans la peau ou sous la peau. L'organisme, insensible, détruit sans en souffrir le germe pathogène : incapable de se laisser infecter par lui, il est également incapable d'édifier en sa présence

d'autres moyens de défense que ses moyens naturels ; il laisse aux tissus sensibles toute leur réceptivité. Il ne saurait dès lors y avoir vis-à-vis du charbon chez les animaux étudiés d'autre infection qu'une « cuti-infection », ni d'autre immunité, qu'une « cuti-immunité ».

Depuis 1921, un certain nombre de travaux ont été consacrés à l'étude du charbon, à la vaccination par voie cutanée et surtout à l'étude de la sensibilité des divers organes vis-à-vis de ce germe.

La possibilité de vacciner l'animal par voie cutanée est un fait universellement reconnu actuellement. A l'exception de M. P. Glouzman (1) qui dit avoir échoué dans ses tentatives d'immunisation du cobaye par la voie intradermique et la voie cutanée, les expérimentateurs ont obtenu des résultats aussi satisfaisants que ceux de M. Besredka.

M. Balteano (2) a pu vacciner des cobayes par application sur la peau rasée des deux vaccins, puis du virus ; mais il a perdu des animaux au moment de l'application du deuxième vaccin.

MM. Brocq-Rousseu et Urbain (3), étendant la méthode à l'immunisation du cheval, ont pu obtenir chez cet animal une immunisation rapide par la voie intradermique, surtout en multipliant les points d'injection

1. M. P. Glouzman, Vrathebnoié Délo (Kharkov), VI, n°s 16-17, septembre 1923.

2. Balteano, *Annales I. P.*, XXXVI, 1922, p. 805

3. Brocq-Rousseu et Urbain, *Vaccination du charbon par la voie cutanée chez le cheval* (*C. R. Biologie*, 21 juillet 1923, LXXXIX, p. 487-488 ; *ibid.*, 20 oct. 1923, LXXXIX, p. 782-783). — *Bulletin soc. centr., Méd. vétér.*, XCIX, n° 24, décembre 1923, p. 482 : — *Annales I. P.*, XXXVIII, mars 1924, p. 268.

dans le derme et ils ont remarqué aussi que, chez l'animal immunisé par cette méthode, le sérum ne contenait pas d'anticorps et n'avait aucun pouvoir protecteur. L'immunité a également pu être obtenue chez le bœuf et le mouton par ce procédé (Mazucchi (1), Velu (2)).

Enfin, dans leurs derniers travaux, MM. Harry Plotz (3) d'une part, Brocq-Rousseu et Urbain (4) de l'autre, ont vacciné avec succès des lots de cobayes par la voie cutanée ; les deux derniers auteurs, employant les injections intradermiques, ont cependant enregistré une mortalité importante lors de l'inoculation du premier vaccin et de l'inoculation du virus non atténué.

Mais si la cuti-vaccination a été admise sans difficulté, il n'en est pas de même de cette notion sur laquelle repose l'immunité locale : la sensibilité élective de la peau vis-à-vis de la bactériodie charbonneuse. Alors qu'un certain nombre d'auteurs ont, en France, confirmé les conclusions de M. Besredka, d'autres bactériologistes, particulièrement à l'étranger, les ont combattues.

Parmi les travaux confirmatifs de ceux de M. Besredka, il convient de rappeler les expériences de M. Balteano (5). Ce bactériologiste inocule des lapins dans les veines et dans les cavités pleurales au moyen d'une aiguille et protège la peau en cautérisant le point d'inoculation ; d'autres lapins sont inoculés dans le péritoine et dans

1. Mazucchi, *Clinica Veterinaria*, 1^{er} juillet, 31 août 1923.

2. Velu, *C. R. Biologie*, 22 mars 1924, XC, p. 746.

3. Harry Plotz, *Rôle de la peau dans l'infection et l'immunité charbonneuse (Annales I. P., XXXVIII, 2 fév. 1924, p. 169).*

4. Brocq-Rousseu et Urbain, *C. R. Biologie*, XC, 12 janvier 1924, p. 4 à 6.

5. Balteano, *Ann. I. P., XXXVI*, p. 805, 1922, (*loc. citat.*).

le tissu cellulaire sous-cutané au moyen de tubes capillaires contenant $3/10$ de centimètre cube d'une émulsion de culture. Ces tubes sont ultérieurement brisés, quand la plaie d'introduction est cicatrisée ; 2 lapins seulement meurent sur les 11 inoculés par ces diverses voies, dont un de ceux qui avaient reçu les tubes sous la peau. L'auteur explique cette mort par une blessure profonde du derme au moment de la rupture du tube. Ayant, réussi chez le cobaye des expériences semblables, il conclut que ni le péritoine, ni la plèvre, ni le tissu cellulaire sous-cutané, ni le système circulatoire ne sont réceptifs vis-à-vis de l'infection charbonneuse.

L'introduction du germe par voie conjonctivale n'a pas donné de meilleurs résultats à Mlle Aïtoff (1) qui, ayant inoculé 18 cobayes dans le cul-de-sac conjonctival avec une émulsion épaisse de bactériidies, n'a observé aucun cas d'infection charbonneuse, bien qu'on pût facilement dans les jours qui suivirent, retrouver la bactériдие sur la conjonctive. Huit souris inoculées de la même façon avec du sang charbonneux résistèrent à l'infection ; sur huit cobayes enfin, ayant reçu du sang charbonneux dans le cul-de-sac conjonctival, deux seulement qui étaient des femelles en gestation succombèrent. L'auteur en conclut que la muqueuse conjonctivale n'est pas sensible au charbon et invoque pour l'expliquer, soit des conditions mécaniques particulières, soit une immunité naturelle locale.

La voie pulmonaire enfin est expérimentée par

1. M. Aïtoff, *Ann. I. P.*, XXXVI, 1922, p. 567.

MM. Brocq-Rousseu et Urbain (1) qui inoculent à 10 cobayes et 5 lapins par voie intratrachéale une culture très virulente de charbon : une moitié de leurs animaux meurent, mais avec une lésion locale œdémateuse au point d'inoculation. Ceux qui survivent n'ont acquis aucun état réfractaire à une inoculation ultérieure sous-cutanée ou intracutanée. Les auteurs concluent que le poumon de cobaye est normalement insensible à l'infection charbonneuse.

M. Harry Plotz (2) ayant inoculé 75 lapins en leur introduisant sous la peau des capsules de verre très mince ou de gélatine, et contenant 1 centimètre cube de culture de charbon en bouillon, brise ces capsules au bout d'un temps variable et observe les faits suivants : la mort est constante quand la capsule est brisée dans les trois premiers jours qui suivent son introduction, la plaie n'étant pas encore cicatrisée ; quand on brise la capsule du quatrième au quinzième jour, 52 o/o des animaux meurent ; cette mort serait due à une blessure accidentelle de la peau. L'auteur, confirmant les recherches de Balteano, conclut à l'insensibilité normale du tissu cellulaire sous-cutané vis-à-vis du charbon.

Etendant à l'espèce bovine la notion de réceptivité particulière de la peau, M. Vallée (3) a montré qu'en inoculant dans le derme de génisses, du virus charbonneux à très petites doses (1/10 de centimètre cube) on peut déterminer la mort deux fois sur cinq alors que

1. Brocq-Rousseu et Urbain, *C. R. Biol.*, XC, 1924, p. 4 (*loc. cit.*)

2. Harry Plotz, *Ann. I. P.* XXXVIII, 1924, p. 169 (*loc. citat.*).

3. H. Vallée, *Bulletin soc. centr. méd. vét.*, 30 juillet 1923, p. 285-288.

les inoculations sous-cutanées déterminent rarement le même résultat.

M. Boquet (1), dans des expériences toutes différentes confirme également le rôle de la peau dans l'infection charbonneuse. Ayant fait ingérer à des cobayes à jeun une grande quantité de spores charbonneuses, il constate que six fois sur dix, l'hémoculture pratiquée de deux à huit heures après le repas était positive. Cependant 1 cobaye sur 6 seulement mourait du charbon au bout de quatre à neuf jours. La pénétration des germes avait donc lieu par l'intestin, mais ne déterminait habituellement pas l'infection ; par contre l'infection se produisait quand, chez ces animaux, la peau venait à être lésée ; c'est ainsi que presque tous ceux dont le cœur avait été ponctionné sont morts avec une lésion œdémateuse autour du point de pénétration de l'aiguille ; ceux dont la peau avait été épilée sont morts également. D'autre part comme on pouvait s'y attendre, l'introduction de virus ou de vaccin en grande quantité par la voie digestive, n'a engendré chez les animaux qui résistèrent aucune immunité consécutive. Ces expériences montrent donc l'insensibilité au charbon de l'intestin normal chez le cobaye, la résistance très grande du milieu sanguin qui peut triompher d'une bactériémie charbonneuse et la vulnérabilité de la peau qui est capable de se laisser infecter, non plus ici de dehors en dedans, mais de dedans en dehors par le sang contaminé, lorsqu'un traumatisme vient à augmenter sa réceptivité.

Le même auteur, qui paraissait enclin à voir dans la

1. A. Boquet, *C. R. Acad. Sciences*, CLXXXVIII, 7, I, 1924, p. 260.

peau le seul organe vulnérable, a cependant montré dans un travail paru très peu de temps après (1) que cette opinion était trop exclusive. M. Boquet a vu en effet que, chez un certain nombre de cobayes, l'ingestion d'une dose massive de spores charbonneuses détermine l'infection avec engorgement de la région sous-glossienne et adénites hémorragiques multiples : il s'agit en pareil cas d'une inoculation bucco-pharyngée. D'autre part, l'infection charbonneuse peut être réalisée par l'inoculation expérimentale sous la base de la langue, aussi bien sous-muqueuse que profonde : les animaux succombent avec un œdème cervical d'autant plus accusé que la mort est plus tardive.

Le même auteur enfin a obtenu l'infection par inoculation de culture sous la muqueuse de la joue et sous la muqueuse conjonctivale, et il en conclut que la peau ne saurait être regardée comme le seul organe sensible.

C'est à la même conclusion qu'aboutissent plusieurs autres auteurs, notamment MM. Bachmann, Beltrami et Romat, M. Combiesco et M. Gratia.

MM. Bachmann, Beltrami et Romat (2) ayant inoculé 7 lapins par voie intraveineuse avec deux souches de bactériidies, et cautérisé profondément le point d'inoculation, ont vu dans tous les cas se déclarer une septicémie mortelle en deux ou trois jours sans aucune lésion locale ; les témoins sont morts dans un temps

1. A. Boquet, *C. R. Biologie*, XC, 1924, p. 72-73, n° 2.

2. A. Bachmann, P. Beltrami et A. Romat (de Buenos-Aires), *Voies d'infection pour le charbon expérimental* (*C. R. Biologie*, LXXXIX, n° 34, 1^{er} déc. 1923, p. 1122-1123).

égal avec œdème caractéristique au point d'inoculation. Ils ont obtenu de même chez la souris une infection mortelle sans lésion locale en inoculant la culture dans le tissu cellulaire de l'extrémité de la queue et en sectionnant celle-ci de dix à trente minutes après l'opération. Les auteurs concluent que l'infection par le charbon est possible sans lésion cutanée et ils supposent que les insuccès de M. Besredka, observés dans de semblables conditions, tiennent à une virulence moindre de la souche employée.

M. Combiesco (1) a, de son côté, consacré d'importantes recherches à la question. Il a tout d'abord confirmé en partie les travaux de M. Besredka et vu la sensibilité plus grande de l'animal vis-à-vis d'une inoculation cutanée ; mais il formule une restriction : c'est que les voies veineuse, péritonéale et sous-cutanée peuvent être également pathogènes quand la quantité de germes injectés est considérable. L'infection se produirait en pareil cas parce que la phagocytose serait incomplète. L'auteur a pu également démontrer la sensibilité du poumon, du foie et de la rate ; il a déterminé en effet une septicémie mortelle en injectant dans ces organes 1/10 de centimètre cube de culture et en ayant soin d'éviter toute autre contamination ; dans le cas d'inoculation intrapulmonaire la septicémie s'accompagna d'une pleurésie séro-sanguinolente.

Se demandant ensuite si la peau possède vraiment

1. D. Combiesco, *Recherches sur le mécanisme de l'infection charbonneuse. Rôle de la peau dans l'infection charbonneuse* (C. R. Biologie, LXXXIX, n° 25, 21 juillet 1923, p. 610-611).

une sensibilité particulière, l'auteur cherche l'explication des phénomènes observés dans l'existence d'une propriété bactérienne ; il rappelle des particularités déjà connues de la bactéridie charbonneuse : son adaptation rapide aux milieux albumineux grâce à une forme encapsulée, et sa résistance à la phagocytose quand elle a pris cette forme. Quand on inocule des bactéridies à l'animal, une partie de celles-ci sont immédiatement phagocytées ; les autres qui ont pu échapper à cette attaque immédiate s'encapsulent, et sous cette forme vont pouvoir réaliser l'infection générale de l'organisme. L'auteur voit dans le rôle favorisant de la peau, non pas une sensibilité particulière, mais un phénomène mécanique ; dans les mailles serrées du derme la phagocytose étant ralentie, les germes ont le temps de prendre leur forme résistante encapsulée, qui leur permettra de pulluler librement. Pour appuyer cette manière de voir, Combiesco reprend alors l'expérience des tubes capillaires de Balteano, en la modifiant. Il voit comme lui qu'un tube capillaire contenant la culture, scellé aux deux bouts, introduit dans le péritoine et ultérieurement rompu, ne détermine aucune septicémie ; mais, en remplaçant les tubes scellés aux deux bouts par des tubes plus longs, scellés à un bout seulement et bouchés de l'autre à l'aide de coton hydrophile, il observe que la rupture entraîne presque toujours une septicémie. Le même phénomène s'observe quand on introduit les tubes dans le tissu cellulaire sous-cutané au lieu du péritoine. L'examen des tubes, après séjour dans le péritoine chez plusieurs animaux, confirma les prévisions de l'auteur ; il montra en

effet que les bactéridies avoisinant le bout ouvert avaient été phagocytées, tandis que celles occupant le fond des tubes avaient pris la forme encapsulée ; c'est la libération dans le péritoine de ces dernières qui expliquait la septicémie.

Il en résulte que la peau favoriserait l'infection charbonneuse plus par son inertie que par sa sensibilité et n'interviendrait qu'en permettant aux bactéridies de prendre leur forme de résistance.

Dans un travail paru peu après, M. Combiesco (1) montre que des bactéridies charbonneuses de culture mises en présence de sang total de cheval normal pendant un certain temps et à l'étuve, sont phagocytées, mais que le mélange demeure virulent ; mises en présence de plasma ou de sérum inactivé du même animal, elles s'encapsulent toutes et le milieu reste très virulent ; enfin, mises en présence de sérum non inactivé elles subissent une lyse intense et le milieu perd sa virulence ; la même expérience faite, non plus avec des bactéridies de culture mais avec du sang de lapin charbonneux, donne des résultats différents : dans ce cas il n'y a plus de lyse ni de phagocytose nulle part ; les germes sont partout encapsulés et les mélanges tous très virulents. Si au lieu d'employer du sang et du sérum de cheval normal on s'adresse à un cheval fortement immunisé, on voit que les phénomènes sont identiques vis-a-vis des bactéridies de culture, mais que vis-à-vis

1. D. Combiesco, *Recherches sur le mécanisme de l'infection charbonneuse, etc.* (C. R. Biologie, LXXXIX, n° 25, 21 juillet 1913, p. 634-636 et p. 637-639).

des bactériidies contenues dans le sang charbonneux, le sang total possède un pouvoir phagocytaire net et le sérum non inactivé un pouvoir lytique

Chez d'autres animaux, l'expérience donne des résultats qui ne sont pas toujours superposables à ceux observés chez le cheval. Quoiqu'il en soit, ces recherches soulignent l'importance de l'encapsulation des bactériidies dans l'infection charbonneuse.

M. Gratia (1) fait intervenir un autre facteur, bactérien lui aussi, dans la genèse de cette infection. Il part pour ses expériences, d'une souche dissociable en deux types de bactéries : les unes donnent sur gélose des colonies plates, filandreuses, à bords frangés, qui s'enlèvent en lambeaux et, repiquées dans du bouillon, donnent d'épais flocons agglutinés constitués par de longs filaments bactériens ; les autres poussent sur gélose en colonies convexes, luisantes, à bords réguliers, de consistance homogène et crémeuse ; ensemencées en bouillon, ces colonies donnent une culture diffuse de bacilles trapus, isolés ou en courtes chaînettes. Ces deux types de bactériidies, déjà vus par Markoff (2) sont d'abord réversibles, mais ils deviennent stables après une longue série de repiquages. Avec ces deux races bactériennes, l'auteur pratique des inoculations intraveineuses chez le lapin, en respectant rigoureusement la peau.

L'inoculation de 0 cmc. 1 à 0 cmc. 25 d'une culture de la race agglutinée détermine onze fois sur douze la

1. A. Gratia, *Variations microbiennes et infection charbonneuse* (C. R. Biologie, t. XC, n° 5, p. 369-371, 26 janvier 1924).

2. Markoff, *Zeitsch f. Infekt. der Haustiere*, XII, 1912, fasc. 2.

mort en deux à quatre jours par septicémie charbonneuse sans lésion locale ; l'hémoculture faite chez ces animaux redonne la variété agglutinée.

Sur 9 lapins au contraire, inoculés de la même manière avec 0 cmc. 25 de la race homogène, 4 survivent, 5 meurent au bout de sept à trente jours, mais un seul de septicémie charbonneuse avec adénite et œdème d'un creux axillaire ; la culture de cet œdème donne la race homogène ; la culture du sang du cœur la race agglutinée.

L'auteur conclut qu'avec la première race la septicémie est de règle à la suite d'une inoculation intraveineuse, et qu'avec la deuxième race on peut obtenir une lésion locale mais sans intervention de la peau. D'autres organes que la peau chez le lapin sont donc sensibles à l'infection charbonneuse.

Dernièrement MM. Cernaianu et St. Suhatzeanu (1) ont inoculé avec 4 souches de charbon plusieurs lapins dans le cerveau, dans la plèvre, dans les veines, dans le foie, dans le péritoine et dans la langue. Ces inoculations ont été faites à travers la peau en prenant les précautions habituelles pour ne pas la souiller. Tous ces animaux sont morts aussi rapidement que les témoins dont la peau avait été volontairement infectée, et aucun d'eux n'a présenté de lésions locales.

Des lapins et des cobayes inoculés dans le péritoine ou dans les muscles abdominaux à travers une large

1. C. Cernaianu et C. St. Suhatzeanu. *Sur la réceptivité des divers tissus pour le charbon expérimental* (C. R. Biologie, XC n° 12, avril 1924, p. 869 871).

fenêtre cutanée sont également morts de septicémie charbonneuse.

Les auteurs concluent que tous les tissus sont plus ou moins réceptifs, et ils pensent même que le cerveau est plus réceptif que la peau.

D'autre part, dans un nouveau travail paru en avril 1924, M. Boquet (1) a montré que certaines régions de la peau ont une résistance beaucoup plus grande; c'est ainsi que des scarifications profondes de la région plantaire chez le cobaye peuvent être badigeonnées abondamment de deuxième vaccin, sans que l'infection en résulte; pour l'obtenir, il faut employer un virus non atténué ou bien inoculer le deuxième vaccin sous la peau; la queue de la souris paraît de même très peu sensible à l'infection, même quand la peau est abondamment inoculée. On peut par cette voie immuniser la souris, et cela même quand on ampute la queue de l'animal une demi-heure après l'injection vaccinale. L'auteur en conclut que la vaccination par voie cutanée paraît indépendante de tout processus infectieux local.

Telle est donc actuellement l'état de la question (2);

1. A. Boquet, *Sur la réceptivité du cobaye et de la souris au charbon* (C.R. Biologie, 5 avril 1924, XC, n° 1, p. 911).

2. Au moment où ce travail était achevé, j'ai eu connaissance d'un mémoire de M Marino sur l'immunité anticharbonneuse du cobaye. Cet auteur, relatant une série de travaux antérieurs, montre qu'on peut obtenir par voie sous-cutanée l'immunisation du cobaye contre la bactériémie charbonneuse. Cette immunisation ne protège pas l'animal contre une forte dose inoculée dans le péritoine. Inversement, la voie péritonéale ne permet d'obtenir aucune immunité. Enfin les animaux vaccinés contre les bactériémies charbonneuses de culture demeurent sensibles à l'inoculation de sang charbonneux. L'immunisation des lapins peut être réalisée suivant la même méthode que chez le cobaye. Chez ces deux espèces animales l'immunisation

l'immunisation par voie cutanée est admise, mais la notion de sensibilité élective de la peau, qui supporte elle-même celle d'immunité locale est, en ce qui concerne le charbon, très controversée. Examinons si, à l'aide de quelques expériences personnelles, il est possible de nous ranger auprès de M. Besredka ou des auteurs qui le contredisent.

RECHERCHES SUR L'INFECTION CHARBONNEUSE DU COBAYE
PAR LA VOIE CUTANÉE. RÉCEPTIVITÉ DE LA PEAU

Dans les diverses expériences qui suivent, une seule souche de charbon a été employée : elle provenait d'un cas de charbon humain observé à Saint-Denis et je la dois à l'obligeance du Dr Chèze qui a bien voulu la donner au laboratoire de l'hôpital Claude Bernard. Cette souche s'est montrée d'une virulence constante et déterminait la mort d'un cobaye de 400 grammes à la dose de 1/1000 de centimètre cube d'une culture en bouillon de vingt-quatre heures, inoculée sous la peau ; il est même possible qu'elle fût virulente à doses moindres.

Si l'on vient à appliquer une semblable culture sur la peau fraîchement épilée d'un cobaye, les résultats se

s'accompagne d'un pouvoir préventif de sérum ; toutefois chez les animaux hyperimmunisés les anticorps disparaissent sans que l'état réfractaire faiblisse, pendant quelques mois du moins.

L'auteur conclut en montrant que le tissu sous-cutané est doué à l'égard du charbon d'une sensibilité particulière que ne possède aucun autre organe et que par cette voie seule, on peut vacciner l'animal. Il fait intervenir dans les phénomènes observés des modifications subies par la bactérie charbonneuse au contact des différents tissus et variables pour chacun d'eux.

montrent toujours semblables à eux-mêmes. Dès le lendemain apparaît une rougeur diffuse avec infiltration du derme, strictement limitée à la zone de peau épilée; le surlendemain la lésion augmente encore et on voit parfois un léger exsudat concrété en croûtelles, surtout si la peau a été érodée par le rasage au moment de l'inoculation; l'animal succombe dans tous les cas, le deuxième ou le troisième jour, rarement plus tard. L'autopsie montre un épaissement œdémateux accusé de la peau inoculée, mais inconstamment l'œdème gélatineux du tissu cellulaire si caractéristique du charbon. Cet œdème existe et déborde même largement la zone d'inoculation, quand la mort ne survient pas avant le troisième jour; mais il manque le plus habituellement quand l'animal succombe en quarante-huit heures. Par ailleurs les lésions observées sur les viscères sont les lésions classiques de la septicémie charbonneuse, sur lesquelles je n'insisterai pas.

Contrairement donc aux germes étudiés jusqu'ici, une culture virulente de bactériidie charbonneuse ne saurait déterminer une lésion locale de la peau sans entraîner une septicémie mortelle. Mais étant donné cette propriété déjà étudiée de la peau de résister à des germes divers à la faveur d'une épilation préalable et pratiquée quatre ou cinq jours auparavant, il y avait lieu de se demander si la résistance cutanée pourrait protéger l'animal contre la pénétration de la bactériidie dans l'organisme et si même par cet artifice, on pourrait tenter l'immunisation en employant une culture non atténuée.

Dans ce but 21 cobayes furent inoculés sur des plaques

de peau épilées quatre à six jours auparavant et rasées au moment de l'inoculation : 10 de ces animaux succombèrent à l'infection (alors que chez les animaux témoins l'infection se produisait dans 100 o/o des cas) ; parmi les 11 survivants, 7 furent inoculés pour la seconde fois sur la même plage de nouveau rasée ; 5 de ces animaux succombèrent encore.

Il en résulte que l'épilation préalable de la peau ne diminue que dans une faible mesure les chances d'infection du cobaye par la voie cutanée. Cependant l'étude de ces diverses expériences montre des phénomènes assez particuliers : les 15 animaux qui ont succombé à l'infection charbonneuse sont tous morts du deuxième au quatrième jour (3 en 2 jours, 2 en 3 jours et 10 en 4 jours) ; dans l'ensemble, la septicémie mortelle s'est donc trouvée légèrement retardée et cependant aucun de ces 15 animaux n'a présenté de lésions locales comparables à celles qui se développent sur une peau fraîchement épilée : ni rougeur diffuse ni infiltration de la peau, parfois quelques minimales lésions à peine rouges, très discrètes et sans infiltration, plus souvent encore aucune lésion macroscopiquement décelable. Chez aucun de ces animaux, même chez ceux qui moururent en quatre jours, délai suffisant pour permettre la constitution d'une lésion locale, le moindre œdème du tissu cellulaire n'a pu être observé dans la région sous-jacente à la peau inoculée. Fait plus singulier encore, 4 de ces animaux présentaient à l'autopsie une lésion œdémateuse caractéristique, *mais à distance*, dans le creux axillaire du même côté que la plage inoculée, voire du côté opposé,

c'est-à-dire au niveau d'un carrefour lymphatique ne correspondant pas fatalement à la région infectée. Voici d'ailleurs les protocoles de quelques-unes de ces expériences :

Cobaye 61. — Inoculation le 12 décembre 1923 avec une culture de charbon en bouillon de vingt-quatre heures sur une zone de peau épilée et rasée cinq jours auparavant et de nouveau rasée au moment de l'inoculation.

L'animal ne présente aucune lésion et survit.

Le 24 décembre, nouveau rasage de la même zone et nouvelle inoculation.

L'animal meurt le 26 décembre. L'autopsie montre les lésions habituelles du charbon et la rate fourmillée de bactériidies, mais il n'existe *aucun œdème local* et la peau inoculée semble complètement saine.

Cobaye 39. — Inoculation le 24 décembre 1923 sur une zone de peau épilée six jours avant et rasée au moment de l'inoculation (région abdominale gauche inférieure). Aucune lésion locale n'est apparue le 27, mais l'animal meurt le 28. L'autopsie ne révèle aucune lésion cutanée ni sous-cutanée dans la région inoculée, mais un *volumineux œdème gélatineux de la patte antérieure gauche et du creux axillaire* du même côté.

Cobaye 6. — Inoculation le 3 janvier 1924 sur une zone de peau épilée cinq jours avant et de nouveau rasée. L'animal ne présente aucune lésion.

Réinoculé sur la même plage de nouveau rasée le 10 janvier, il ne présente encore aucune lésion et survit.

Cet animal est mort accidentellement le 28 janvier (Aucune lésion charbonneuse à l'autopsie).

Cobaye 64. — Inoculation le 25 janvier 1924 sur une zone de peau de l'abdomen épilée quatre jours auparavant et de nouveau rasée : L'animal ne présente aucune lésion.

Réinoculé le 19 janvier, il succombe au bout de deux jours. La rate fourmillée de bactériidies, mais il n'existe aucune lésion cutanée ni sous-cutanée ; par contre un *œdème gélatineux* *emplit le creux axillaire* correspondant à la plage inoculée.

Cobaye 56. — Inoculation le 17 janvier sur une zone de peau épilée et rasée six jours auparavant et de nouveau rasée ce jour.

Le 19 apparaissent quelques très petites lésions rouges ressemblant à des folliculites.

L'animal meurt le 20 : il ne présente *aucun œdème local*. La rate contient de nombreuses bactériidies.

Cobaye 45. — Inoculation le 15 janvier 1924 sur la peau épilée quatre jours auparavant (*région abdominale inférieure gauche*), l'animal ne présente aucun accident ; réinoculé le 19 janvier sur la même plage cutanée de nouveau rasée, il meurt le 23. L'autopsie ne montre aucune lésion de la zone inoculée, mais un *œdème gélatineux de la région sous-claviculaire droite* ; la rate contient des bactériidies.

Ces expériences montrent, on le voit, que vis-à-vis de la bactériдие charbonneuse, comme vis-à-vis des autres agents microbiens étudiés jusqu'ici, la peau du cobaye n'est susceptible de répondre à l'infection par une réaction locale qu'à la faveur du traumatisme engendré par l'arrachement récent des poils ; elle devient à peu près incapable de réagir, fût-elle de nouveau rasée, quand l'épilation remonte à quelques jours auparavant. Cependant, malgré cet état particulier, le tégument permet dans de nombreux cas le passage de la bactériдие charbonneuse. La pénétration des germes engendre une septicémie charbonneuse presque aussi rapide que celle qui suit la réaction cutanée intense d'un territoire neuf. En aucun cas cette septicémie ne s'accompagne d'une lésion adémateuse de la zone inoculée et quand une lésion locale se produit, c'est à distance qu'on la voit apparaître et dans un carrefour lymphatique. L'absence constante de l'œdème local dans toutes les expériences précédentes est d'autant plus remarquable que l'œdème s'observe presque toujours chez les animaux, qui, inoculés sur une peau fraîchement épilée, succombent seulement au bout de quatre jours, et qu'il survient constamment chez les

animaux inoculés sous la peau à l'aide d'une aiguille, même avec une dose minime de culture.

Quel peut être le rôle particulier de la peau dans cette modalité d'inoculation ?

Il est indispensable pour tenter de résoudre ce problème de recourir d'abord à l'examen histologique afin de préciser le mode d'envahissement des bactériidies.

LÉSIONS HISTOLOGIQUES DE LA PEAU INFECTÉE

PAR LE CHARBON

Une coupe de peau de cobaye infectée par le charbon aussitôt après l'épilation, et prélevée après la mort de l'animal montre des lésions histologiques considérables. L'afflux des polynucléaires qui envahissent la peau, disloque en de multiples endroits le corps muqueux dont on ne voit que des fragments, si bien que par places le derme se continue par des amas de leucocytes morts et de débris épithéliaux en voie d'élimination sans épiderme reconnaissable. Dans la profondeur la diapédèse leucocytaire est moindre et le fond des follicules pileux semble presque partout intact. Une coloration par la méthode de Gram décèle de très nombreuses bactériidies ; les vaisseaux sanguins et lymphatiques en sont bourrés ; la même abondance de microbes s'observe dans les couches profondes du derme, au-dessous, du fond des follicules pileux où ils forment un véritable chevelu ainsi que dans le tissu cellulaire sous-jacent. Dans les couches superficielles du derme, les bactériidies constituent çà et là de petits amas, mais sont beaucoup plus

rare ; dans l'épiderme enfin et dans les amas de polynucléaires et de débris épithéliaux en voie d'élimination, il n'est pas possible d'en déceler.

Sur une coupe de peau inoculée cinq jours après l'épilation et n'offrant pas de réaction macroscopique, on n'observe bien entendu aucun désordre histologique semblable. Épiderme et follicules pileux sont partout intacts ; le corps muqueux est, comme il était à prévoir, un peu épaissi et dans le derme la diapédèse est de médiocre importance. La recherche des bactériidies est cependant constamment positive : les vaisseaux sanguins et lymphatiques en renferment en plus ou moins grand nombre et, dans une moitié des cas, seules apparaissent ces bactériidies intravasculaires ; mais aussi souvent on observe des amas microbiens disposés en certains points bien circonscrits du derme. Ils forment alors, comme l'indique la figure ci-contre, une nappe dans la profondeur du derme au-dessous du fond des follicules pileux et s'étendant jusqu'à la couche musculaire ; ils manquent par contre tout à fait dans l'épiderme et dans les couches superficielles du derme.

Il y avait lieu, bien entendu, avant d'interpréter ces faits, d'examiner une coupe de peau saine chez un cobaye mort de septicémie charbonneuse. Une pareille coupe révèle, comme on pouvait s'y attendre, la présence de fort nombreuses bactériidies dans le derme et dans l'hypoderme, mais tous les germes sont contenus dans les vaisseaux sanguins et surtout lymphatiques ; on n'en trouve point de disséminés en plein tissu.

Cet examen comparatif montre que, dans l'interpré-



FIG. 4. — Coupe de peau de cobaye infectée par la bactérie charbonneuse à la suite d'un badigeonnage du tégument, épilé cinq jours auparavant, avec une culture en bouillon. L'intégrité de l'épiderme et des couches superficielles du derme est complète. Une épaisse nappe de bactéries s'étend au-dessous du fond des follicules pileux dans les couches profondes du derme. La pièce a été prélevée après la mort de l'animal (Coupe de Giequel. Coloration par la méthode de Gram).

tation des lésions, il n'y a aucun compte à tenir des bactéridies que renferment les capillaires sanguins et lymphatiques et qui forment de petits amas circonscrits bien caractéristiques ; seuls méritent d'être retenus comme témoins d'une infection locale, les germes qui pullulent en véritable nappe dans le tissu conjonctif du derme et de l'hypoderme.

On vient de voir que, *chez l'animal mort de charbon*, ces amas microbiens se rencontrent constamment dans la peau qui offre une lésion macroscopique, et inconstamment dans celle qui n'a pas réagi à l'inoculation. Ils sont dans ce dernier cas beaucoup moins nombreux, mais il y aurait imprudence à nier leur existence lorsque l'examen des coupes n'en révèle pas, car il est difficile d'examiner au microscope toute l'étendue d'un territoire inoculé. En admettant donc que la pullulation de la bactéridie dans la profondeur du tégument soit constante, chez l'animal mort de charbon à la suite d'une application cutanée du germe, il faut se demander si cette pullulation représente ou non un « chancre d'inoculation », cause première et indispensable de la septicémie.

L'examen bactériologique de la peau, pratiqué sur l'animal infecté, *mais vivant*, n'est guère favorable à cette hypothèse. Dans l'espoir de surprendre le mode de pénétration des bactéridies, deux lots de 4 cobayes chacun furent inoculés. Le premier lot sur des plages de peau épilées au moment de l'inoculation, le second sur des plages de peau épilées cinq jours avant et rasées au moment de l'inoculation ; dans chacun de ces

lots furent prélevés des fragments de peau infectée, au bout de six heures chez un animal, de dix-huit heures chez un autre, de vingt-quatre heures chez un troisième, de quarante-huit heures chez le quatrième. (Tous ces cobayes d'ailleurs moururent peu de temps après d'infection charbonneuse).

L'examen histologique de ces fragments montra, comme on pouvait s'y attendre, que les lésions étaient nulles chez les cobayes du deuxième lot, considérables au contraire chez les cobayes du premier ; déjà très nettement indiquée au bout de six heures, la diapédèse devient au bout de dix huit heures considérable, envahissant l'hypoderme et le derme, surtout dans ses couches toutes superficielles, pénétrant l'épiderme et le disloquant en plusieurs endroits ; les coupes pratiquées au bout de vingt-quatre heures révèlent les lésions les plus intenses, un amoncellement de polynucléaires ayant détruit la presque totalité du corps muqueux à l'exception des culs-de-sac folliculaires et formant avec les débris de la couche cornée un amas informe en voie d'élimination, tandis que dans la profondeur, la diapédèse persiste intense. Sur les coupes de quarante-huit heures, les lésions apparaissent déjà en voie de réparation ainsi qu'en témoigne un corps muqueux partiellement reconstitué et riche en caryokinèses, recouvrant un derme où les cellules migratrices sont encore abondantes.

La recherche des bactéridies sur ces mêmes coupes colorées par la méthode de Gram donne des résultats plus inattendus : sur les deux coupes de peau prélevées à la sixième heure, quelques très rares bactéridies purent

être découvertes dans les follicules pileux. Cette rareté n'est d'ailleurs pas surprenante, car les germes déposés à la surface de la peau et n'ayant pas eu le temps de pénétrer, avaient dû être entraînés par les diverses manipulations histologiques ; mais, sur les coupes suivantes appartenant aussi bien à un lot qu'à l'autre, il ne fut pas possible malgré une recherche minutieuse de découvrir la moindre bactériémie ; dans les coupes du premier lot en particulier, on ne peut déceler de bâtonnet, ni dans le derme en pleine réaction inflammatoire, ni dans les cellules du corps muqueux, ni dans les amas leucocytaires de la superficie en voie d'élimination, tout au plus existe-t-il dans cette masse compacte quelques grains noirs pouvant être, à la rigueur, considérés comme des débris bactériens.

On voit que ces lésions sont très comparables à celles observées dans l'infection streptococcique de la peau du lapin. Dans un cas comme dans l'autre on observe une destruction épithéliale plus ou moins étendue et un afflux considérable de polynucléaires dans les couches superficielles du derme, mais la pullulation microbienne dans l'épaisseur même de la peau fait entièrement défaut. La réaction cutanée paraît être une réaction de défense aboutissant rapidement à la destruction et à l'élimination des microbes pathogènes. Mais, dans le cas de l'infection charbonneuse cutanée, deux faits paraissent tout à fait singuliers : c'est, d'une part le contraste entre l'absence de bactériémies dans la peau infectée de l'animal vivant, et leur présence souvent en grande abondance dans la peau infectée de l'animal

mort de septicémie ; d'autre part, l'inefficacité de la réaction inflammatoire cutanée locale, qui est dans tous les cas, suivie d'une septicémie charbonneuse mortelle.

Pour ce qui est du premier fait, observé à plusieurs reprises, il est permis de supposer que la multiplication des bactériidies dans la peau n'a pas la valeur d'un chancre d'inoculation, qu'elle représente simplement une pullulation secondaire agonique au même titre que la septicémie charbonneuse elle-même et que l'envahissement massif de la rate par les bactériidies. Cette hypothèse aurait l'avantage d'expliquer comment on peut trouver dans une peau d'apparence saine des nappes bactériennes qui semblent n'avoir entraîné aucune espèce de réaction inflammatoire. Mais ce n'est là bien entendu qu'une hypothèse et qui demanderait pour être confirmée, de nombreuses preuves histo-bactériologiques.

Quant à l'inefficacité de la réaction locale, il semble qu'elle soit expliquée par l'indépendance relative entre cette réaction et la pénétration des germes dans l'organisme ; on a vu en effet que si la septicémie charbonneuse accompagne constamment les phénomènes inflammatoires locaux, elle survient encore avec une grande fréquence lorsque la peau ne réagit pas. Il est donc permis de supposer que la pénétration des bactériidies dans l'organisme n'est pas liée à l'existence de la réaction locale, peut-être même qu'elle devance son apparition.

Si cette manière de voir a quelques chances d'être exacte, on pourrait concevoir l'infection charbonneuse

par la peau chez le cobaye de la manière suivante : pénétration d'un certain nombre de germes, probablement assez réduite, à travers la peau inoculée, mais indépendamment de la réaction locale superficielle et banale observée dans les vingt-quatre ou quarante-huit premières heures ; ultérieurement, apparition simultanée à la faveur des germes qui ont pénétré, d'une infection générale charbonneuse et d'une pullulation locale au point d'inoculation.

Pareille conception irait, on le voit, au rebours de toutes les notions actuellement reçues sur la sensibilité de la peau vis-à-vis du charbon. Elle ne tiendrait à rien moins qu'à faire de la peau un organe d'une particulière résistance et dès lors sa prétendue sensibilité serait une apparence due à une propriété spéciale des microbes. Tandis que le streptocoque, la pasteurélla, qui sans doute, traversent eux aussi la peau dans les mêmes conditions, ne peuvent infecter l'organisme de l'animal, soit parce que trop rares ou atténués par leur passage ; la bactériidie charbonneuse semble, au contraire, capable après traversée de la peau de déterminer l'infection, même au nombre de quelques unités seulement, comme si cette traversée lui avait conféré une résistance particulière. C'est exactement d'ailleurs l'opinion de M. Combiesco et nous aurons l'occasion d'y revenir plus loin.

ESSAIS D'IMMUNISATION PAR VOIE CUTANÉE
AVEC LE VIRUS CHARBONNEUX NON ATTÉNUÉ.

Les 21 expériences d'inoculations cutanées citées plus haut n'avaient pas pour but exclusif l'étude de l'infection par cette voie, mais aussi la recherche des modifications possibles de réceptivité de l'animal. Il y avait lieu, en effet, de se demander si, à la faveur de la résistance particulière de la peau antérieurement épilée, une ou plusieurs inoculations cutanées seraient susceptibles d'immuniser ultérieurement l'animal. Rien de semblable ne put être obtenu, dans la très grande majorité des cas tout au moins. On a vu que la plupart des animaux inoculés suivant cette méthode succombèrent, soit à la première, soit à la seconde inoculation cutanée; les autres succombèrent à une inoculation faite par une autre voie; un seul fut immunisé, peut-être grâce à la combinaison de divers artifices; voici l'histoire de ce cobaye :

Cobaye 17. — Inoculation le 20 novembre 1923 d'une culture de charbon en bouillon de vingt-quatre heures sur une zone de peau épilée six jours avant et rasée au moment de l'inoculation. Aucune réaction au bout de quarante-huit heures, tandis qu'un cobaye témoin meurt en trois jours.

Le 24 novembre : inoculation intrapéritonéale de 2/10 de centimètre cube de culture, sans précaution spéciale pour éviter de souiller la peau : aucun accident.

Même inoculation le 30 : aucun accident tandis que deux témoins meurent.

Le 24 décembre : inoculation de 1/20 de centimètre cube de culture sous la peau : l'animal présente un petit nodule qui spontanément se résorbe.

Le 3 janvier 1924, 2/10 de culture sous la peau ne produisent aucun accident.

Le 10 janvier, l'application de culture sur la peau fraîchement épilée ne détermine ni réaction locale, ni réaction générale.

La même inoculation pratiquée le 7 mars 1924 demeure encore sans résultat.

Cette expérience, malheureusement restée unique, montre donc la possibilité de vacciner le cobaye contre le charbon par inoculation sur la peau, désensibilisée d'une culture très active et en l'absence de lésion locale, du moins macroscopiquement apparente ; cette expérience illustre le rôle des modifications acquises de la peau dans le déterminisme des infections cutanées, mais son caractère exceptionnel empêche de se baser sur elle pour affirmer que l'immunisation obtenue par voie cutanée puisse être indépendante de toute réaction locale. Il est intéressant toutefois de la rapprocher des faits observés par M. Boquet dans un travail déjà cité. Cet expérimentateur met en lumière l'insensibilité relative de certaines régions de la peau : plante du pied du cobaye et queue de la souris (il est permis de supposer que cette résistance tient justement à ce que l'épilation n'intervient pas ici pour sensibiliser la peau avant l'inoculation). M. Boquet montre en même temps que l'immunisation peut être obtenue chez la souris par inoculation de la peau, sans lésion de la peau, grâce à l'artifice de l'amputation de la queue. Les résultats qu'il obtient semblent donc superposables à ceux de l'expérience précédente.

Il y a lieu de remarquer enfin que dans le cas du charbon comme dans celui de la pasteurellose étudiée, l'immunité complète de la peau coïncide avec l'état

réfractaire total de l'organisme. Le parallélisme se montre aussi rigoureux dans les deux cas. Est-il possible toutefois qu'un état imparfait d'immunisation détermine une sensibilisation cutanée transitoire ? Deux expériences effectuées récemment peuvent le faire croire. Deux cobayes en effet qui avaient reçu chacun sous la peau $1/4$ de centimètre cube de premier vaccin ont été inoculés cinq jours après avec du virus charbonneux appliqué sur la peau fraîchement épilée. L'un de ces animaux a présenté une réaction locale extrêmement intense sous forme d'un vaste placard purpurique ; il est mort d'ailleurs dans les délais habituels. Chez l'autre, la réaction fut moins accusée, mais prit aussi un caractère purpurique ; cet animal a également succombé. Il est permis de voir dans ces réactions d'aspect tout à fait particulier un phénomène d'allergie comparable à ceux qui ont été observés dans l'infection streptococcique.

INFECTION CHARBONNEUSE DU COBAYE
PAR VOIE CARDIAQUE OU INTRAVEINEUSE

Dans une série d'expériences d'un autre ordre, j'ai voulu rechercher avec la souche de charbon que je possédais s'il était possible de déterminer l'infection générale du cobaye par voie intrapéritonéale et par voie sanguine, indépendamment de toute lésion cutanée. Les inoculations intrapéritonéales furent pratiquées à travers la peau abdominale. Malgré les précautions prises, un léger reflux de liquide se produisit dans de nombreux cas, aussi le résultat de ces expériences a-t-il peu de

valeur. Sur 8 animaux inoculés avec des doses allant de 1/10 à 1/2 centimètre cube de culture, 6 moururent, mais 4 avec un œdème étendu de la paroi abdominale ; les deux survivants avaient reçu 2/10 et 1/2 centimètre cube de culture. Deux autres animaux reçurent de minimas doses de sang charbonneux dans le péritoine : ils moururent tous deux, mais avec un œdème étendu de la paroi abdominale. Ces résultats montrent que la mort des animaux était due à une faute de technique difficile à éviter quand on transperce directement la peau et la paroi abdominale. La survivance des 2 cobayes dans le cas où l'inoculation fut correctement pratiquée semble toutefois bien montrer que le péritoine est capable de supporter des doses considérables de culture ; il fut d'ailleurs facile de vérifier par la suite que ces animaux, conformément aux faits signalés par M. Besredka, n'étaient pas immunisés.

Les inoculations par voie sanguine par contre, purent être exécutées avec une rigueur beaucoup plus grande et donnèrent des résultats autrement précis : 10 cobayes furent inoculés dans le cœur avec des doses variables de culture de charbon en bouillon (culture datant de vingt-quatre heures, sauf dans un cas) ; 6 autres cobayes reçurent dans le cœur des dilutions variables de sang charbonneux, que l'examen microscopique avait montré extrêmement riche en bactériidies ; 3 autres enfin reçurent dans le cœur quelques gouttes de sérosité d'œdème charbonneux. Ces 19 inoculations intracardiaques furent effectuées suivant la même technique : après épilation et désinfection à l'iode de la région pré-

cordiale, la ponction du cœur était pratiquée avec une fine aiguille stérile montée sur une seringue stérile; quand le sang affluait spontanément dans la seringue, celle-ci était remplacée par une autre seringue préalablement chargée du liquide virulent; l'injection une fois poussée, le sang était aspiré à deux ou trois reprises de façon à débarrasser l'aiguille autant que possible des bactériidies qui pouvaient y demeurer; puis l'aiguille était retirée brusquement et le point d'inoculation aussitôt cautérisé au fer rouge. Voici la liste complète de ces expériences :

Cobaye 53^a. — Le 19 mars 1924 : une goutte de sérosité d'œdème charbonneux dans le cœur.

Mort le 22 de septicémie; aucune lésion locale.

Cobaye 11. — Le 19 mars, une goutte de sérosité d'œdème charbonneux dans le cœur.

Aucun accident; survie.

Cobaye A³. — Une goutte de sérosité d'œdème charbonneux dans le cœur, le 22 mars.

Mort le 26, de septicémie pure (peu de bactériidies dans la rate); aucune lésion locale.

Cobaye A⁴. — Le 22 mars, 1/20 de centimètre cube de sang de cobaye charbonneux dans le cœur.

Mort le 24, avec épanchement pleural gauche, épanchement péricardique et volumineux œdème médiastinal, mais aucune lésion locale cutanée ni sous-cutanée.

Cobaye 10. — Le 24 mars, 1/2.000 de centimètre cube de sang charbonneux dans le cœur.

Mort le 26. Épanchement pleural double. Aucune lésion cutanée ni sous-cutanée.

Cobaye 90. — Le 24 mars, 1/2.000 de centimètre cube de sang charbonneux dans le cœur.

Mort le 26. Septicémie avec léger œdème médiastinal, aucune lésion locale cutanée ni sous-cutanée.

Cobaye 24. — Le 26 mars, 1/16.000 de centimètre cube de sang charbonneux dans le cœur.

Mort le 29, de septicémie massive sans aucune lésion locale.

Cobaye 38. — Le 31 mars, 1/20.000 de centimètre cube de sang charbonneux intra-cardiaque.

(Animal mort le 3 avril, mais avec des lésions de pseudo-tuberculose des rongeurs; pas de septicémie charbonneuse).

Cobaye 85. — 1/20.000 de centimètre cube de sang charbonneux intracardiaque le 31 mars; survie.

Cobaye 82. — Le 19 mars, 1/8 de centimètre cube de culture de charbon datant de trois jours dans le cœur.

Aucun accident; survie.

Cobaye 62. — Le 24 mars, 1/20 de centimètre cube de culture de charbon en bouillon de vingt-quatre heures dans le cœur (premier repiquage d'une culture provenant du sang d'un cobaye charbonneux).

Mort le 26, de septicémie pure; aucune lésion locale.

Cobaye 100. — Le 24 mars, 1/12 de centimètre cube de culture de charbon intracardiaque.

Mort le 26; septicémie massive; aucune lésion locale.

Cobaye 42. — Le 27 mars, 1/40 de centimètre cube de la même culture de charbon, dans le cœur.

Mort le 29; septicémie charbonneuse typique avec un léger œdème médiastinal; aucune lésion cutanée ni sous-cutanée.

Cobaye 84. — Le 27 mars, 1/40 de centimètre cube de culture intracardiaque.

Mort le 29; œdème médiastinal léger et septicémie; pas de lésion cutanée ni sous-cutanée.

Cobaye 77. — Le 27 mars, 1/40 de centimètre cube de culture intracardiaque.

Mort le 29, de septicémie charbonneuse.

Aucune lésion locale.

Cobaye 73. — Le 2 avril, 1/80 de centimètre cube de culture de charbon intracardiaque.

Mort le 4, avec épanchement gélatiniforme des deux plèvres; aucune lésion cutanée ni sous-cutanée.

Cobaye 54. — Le 2 avril, 1/160 de centimètre cube de culture de charbon intracardiaque; mort le 4, de septicémie pure, sans aucune lésion locale.

Cobaye 53^b. — Le 4 avril, 1/2.000 de centimètre cube de culture de charbon intracardiaque; survie.

Cobaye 64. — Le 4 avril, 1/4.000 de centimètre cube de culture de charbon intracardiaque; survie.

Témoin : *Cobaye 46*. — Le 4 avril, 1/4.000 de centimètre cube de culture sous la peau de l'abdomen ; œdème local le 7, atteignant le 9 le volume d'un œuf de poule ; mort le 10.

On voit donc que sur 3 cobayes inoculés avec quelques gouttes de sérosité d'œdème charbonneux dans le cœur, 2 sont morts et un a survécu ; que, sur 6 cobayes ayant reçu dans le cœur des quantités de sang charbonneux variant de 1/20 à 1/20.000 de centimètre cube, un a survécu et un autre est mort d'une infection étrangère. Ce sont précisément les 2 cobayes inoculés avec la plus petite dose (1/20.000 de centimètre cube). Enfin, sur 10 cobayes inoculés dans le cœur avec des quantités de culture variant de 1/8 à 1/4.000 de centimètre cube, 3 seulement ont survécu ; ce sont d'une part, celui qui avait reçu 1/8 de centimètre cube d'une culture *vieille de trois jours*, d'autre part, les deux qui avaient reçu les plus petites doses de culture jeune (1/2.000 et 1/4.000 de centimètre cube).

Sur les 13 cobayes morts de charbon, 6 ont présenté des lésions médiastinales ou pleurales plus ou moins accusées, probablement consécutives à l'ensemencement local par un suintement issu de la plaie cardiaque ; 7 sont morts de septicémie pure ; *aucun des 13 enfin, n'a présenté la moindre lésion locale cutanée ou sous-cutanée*. Un frottis du tissu conjonctif sous-cutané de la région précordiale pratiqué à titre confirmatif chez plusieurs de ces animaux montra bien quelques bactériidies, mais ni plus ni moins qu'un frottis du tissu conjonctif de la cuisse.

Avant de tirer des conclusions il importe, en effet, de

parer l'objection qui ne manquera pas d'être faite : celle d'une contamination de la peau ayant passé inaperçue et seule responsable de l'infection. Cette critique ne paraît vraiment pas acceptable, et pour deux raisons :

La première est l'absence constante de lésion au point d'inoculation. Si en effet, il a été dit plus haut que dans des conditions particulières, l'inoculation de la peau pouvait déterminer la mort sans œdème local, il n'en reste pas moins vrai que la piqûre de la peau fraîchement épilée du cobaye avec une aiguille souillée de virus détermine avec une grande constance une lésion locale œdémateuse ; et M. Besredka ne reconnaît-il pas lui-même comme critérium d'une faute de technique, l'apparition d'une lésion locale au point de piqûre ? Or, il est singulier que chez les 13 animaux morts de charbon, et donc suspects d'avoir été contaminés par la peau, la plus légère lésion locale n'ait pu être une seule fois décelée.

Le deuxième argument est d'ordre plus général : dans une série d'expériences troublées par une cause d'erreur, les résultats affectent une allure désordonnée ; ainsi furent les résultats des inoculations intrapéritonéales mentionnées plus haut. Rien de semblable ne se voit dans la série précédente : les survivants sont les animaux qui étaient le moins exposés à l'infection, ayant reçu, les uns une vieille culture, les autres les plus faibles doses de virus ; ceux qui ont succombé sont morts dans un temps d'autant plus court que la dose était plus sévère. Une courbe qui représenterait ces résultats n'aurait pas de solution de continuité.

L'infection de la peau paraissant hors de cause, les résultats peuvent être maintenant discutés.

On voit que l'infection charbonneuse du cobaye peut être *régulièrement* obtenue quand on injecte dans la circulation, du sang charbonneux ou une culture virulente et jeune ; les doses de culture nécessaires, sans être très considérables, sont toutefois nettement supérieures à la dose minima mortelle sous la peau. Nous avons vu en effet les cobayes succomber à l'inoculation de 25 doses mortelles et résister à une ou deux doses ; quant au sang charbonneux, il détermine par voie intracardiaque l'infection à des doses très faibles, puisque nous avons vu 1/16.000 de centimètre cube suffire à déterminer la mort en trois jours. Ces faits s'accordent tout à fait avec les recherches de M. Combiesco qui reconnaît à l'encapsulation des bactéridies et à leur adaptation aux milieux albumineux de l'économie animale un rôle très important dans l'infection charbonneuse. Dans un seul cas nous avons vu qu'une dose importante de virus charbonneux pouvait, par injection intracardiaque, ne pas entraîner d'accident ; ce cas correspond à l'emploi d'une culture âgée de 3 jours, ayant sans doute déjà sporulé.

Quand on évite cette cause d'erreur, en employant une culture de vingt-quatre heures, on peut donc affirmer que l'infection charbonneuse peut être déterminée constamment sans lésion cutanée, à la condition, bien entendu, d'employer une culture de virulence suffisante, et tout en reconnaissant que l'animal peut résister, quand il est inoculé par cette voie, à des doses qui, en

injection sous-cutanée ou intra-dermique, seraient régulièrement mortelles.

* * *

Dans le but de confirmer ces expériences et d'éliminer mieux encore le facteur peau, dix autres cobayes ont été inoculés non plus par voie intracardiaque, mais par voie intraveineuse, dans le sinus caverneux selon la technique préconisée par A. Pettit ; pareille intervention est facilement praticable chez un cobaye, surtout quand il est jeune, en introduisant une aiguille fine et relativement longue dans l'orbite, par l'angle interne de l'œil et en suivant jusqu'à la fente sphénoïdale la paroi interne de l'orbite. L'aiguille, une fois en place, il est aussi facile que dans le cœur de pousser l'injection et de purger l'aiguille en aspirant et refoulant du sang deux ou trois fois de suite. L'aiguille est alors retirée brusquement et il ne subsiste de l'inoculation aucune trace.

Cinq cobayes ont reçu par cette méthode des doses variables de culture charbonneuse de vingt-quatre heures, soit $1/20$ de centimètre cube, $1/40$, $1/1.000$ et $1/4.000$; 4 de ces cobayes sont morts de charbon, ceux qui reçurent $1/20$ et $1/40$ de culture en vingt-quatre heures et celui qui reçut $1/1.000$ en trois jours. Le dernier, inoculé avec $1/4.000$ de culture, est mort au bout de cinq jours, mais non d'infection charbonneuse et peut être considéré comme n'ayant pas été infecté.

Quatre cobayes ont reçu des doses de sang charbonneux variant de $1/100$ à $1/1.000$ de centimètre cube (le sang utilisé étant assez pauvre en bacilles) : tous ces

cobayes sont morts. Un cobaye enfin a reçu dans le sinus caverneux 1/80 de centimètre cube de sérosité d'œdème : ce cobaye a survécu.

Si nous ajoutons *qu'aucun de ces animaux n'a présenté la moindre lésion locale orbitaire ou conjonctivale* au moment de la mort, nous voyons que les résultats sont entièrement superposables à ceux des inoculations intracardiaques et viennent encore les renforcer.

Il n'est pas inutile de rappeler d'ailleurs que les expériences déjà signalées de Mlle Aïtoff ont montré la difficulté d'inoculer le charbon au cobaye par la voie conjonctivale. Le seul reproche que pourraient encourir les expériences précédentes tombe donc de lui-même, puisque le point de pénétration de l'aiguille blesse un tissu reconnu peu sensible. La valeur des faits apportés s'en trouve encore accrue et *ils mettent définitivement hors de cause le rôle d'une lésion cutanée, si imperceptible fût-elle, dans la genèse de l'infection charbonneuse par voie sanguine.*

SENSIBILITÉ GÉNÉRALE DU COBAYE A L'INFECTION
CHARBONNEUSE. — LA CUTI-IMMUNITÉ ENVISAGÉE
COMME IMMUNITÉ GÉNÉRALE.

A l'aide des expériences précédentes, il semble devenir possible d'émettre une vue d'ensemble sur l'infection charbonneuse expérimentale et particulièrement sur la sensibilité de la peau.

Nous avons vu M. Besredka et différents experimen-

tateurs soutenir que la peau est seule sensible en s'appuyant sur le fait que des inoculations pratiquées par diverses voies ne déterminent pas l'infection à la condition de ne pas souiller la peau. M. Besredka a d'abord affirmé le fait pour les injections intraveineuses et intrapéritonéales : il confirme par là que le péritoine et le milieu sanguin du cobaye opposent à l'infection une résistance plus grande, ce qui ne saurait surprendre ; mais il y a imprudence à affirmer l'innocuité de toutes les voies d'inoculation autres que la peau.

Ce n'est pas qu'il s'agisse de mettre en doute les expériences des auteurs précédents. La confrontation de leurs résultats avec les miens permet d'expliquer les discordances observées. On a vu plus haut qu'avec l'échantillon de charbon utilisé, il était possible d'introduire de fortes doses de culture dans le péritoine sans provoquer de troubles appréciables et que, d'autre part, de faibles quantités de culture qui, injectées sous la peau, engendraient constamment une infection mortelle, pouvaient être impunément inoculées dans le système circulatoire. Il est donc légitime d'admettre que les succès enregistrés par M. Besredka et différents bactériologistes dans l'inoculation par voie intraveineuse, tiennent au faible degré de virulence (1) de la culture qu'ils ont utilisée.

Quoiqu'il en soit, les faits avancés par M. Besredka ne sauraient infirmer la légitimité des expériences de

1. J'entends par virulence l'aptitude végétative d'un microorganisme vis-à-vis d'un animal donné ; cette propriété ne pouvant être que très imparfaitement définie par le degré ultime de dilution où la culture de ce germe est encore infectante.

MM. Bachmann, Beltrami et Romat, M. Combiesco, M. Gratia, MM. Cernaianu et St Suhatzeanu qui ont obtenu régulièrement l'infection par voie intraveineuse en employant des cultures d'une virulence convenable ; les expériences personnelles relatées plus haut et portant sur 29 cobayes montrent également que, par la voie intracardiaque ou intraveineuse, la contamination est obtenue automatiquement dès qu'on emploie une dose de culture jeune représentant une dizaine de doses mortelles sous la peau. Convenons qu'il y a là plus qu'une coïncidence et que l'infection charbonneuse peut être produite sans que la peau y intervienne en rien. On pourrait objecter, il est vrai, qu'un point quelconque de la peau se trouve sensibilisé et qu'infecté par voie sanguine, il devienne le point de départ de la septicémie. Mais on conçoit que poser le problème de cette façon, c'est décréter d'avance qu'il ne peut être résolu que dans le sens désiré. Pour ce qui est de la sensibilité d'autres organes et tissus, on a vu que les partisans de la cutisensibilité exclusive affirment l'état réfractaire des divers organes et même du tissu cellulaire. Que Mlle Aïtoff n'ait pas obtenu l'infection par voie conjonctivale, que MM. Brocq-Rousseu et Urbain aient également échoué par voie intratrachéale, la chose est, pour ce qui nous occupe, de médiocre importance : ces expériences intéressantes prouvent seulement la résistance normale des épithéliums envisagés vis-à-vis du charbon. Mais MM. Balteano d'une part, Harry Plotz d'autre part, introduisant dans le tissu cellulaire des tubes ou des capsules pleins de virus charbonneux, et les rompant

ensuite, déclarent ne pas observer l'infection et concluent que le tissu cellulaire est normalement réfractaire. Notons que le séjour prolongé d'un corps étranger dans un tissu ne peut que mettre en activité des processus de défense qui doivent entrer en ligne de compte, quand on recherche ultérieurement sa sensibilité. Ajoutons d'autre part que M. Balteano a enregistré quelques échecs et M. Harry Plotz, dont les expériences portent sur 75 lapins, a obtenu un pourcentage considérable (100 p. 100) de mortalité, quand les capsules sont rompues précocement, et un pourcentage de 52 0/0 quand elles sont rompues tardivement. Ces auteurs attribuent d'une façon toute gratuite leurs échecs à une infection traumatique de la peau. D'ailleurs M. Combiesco a montré que ce procédé entraîne constamment l'infection si, à l'aide de tubes fermés au coton, on permet aux bactériidies mises ainsi en réserve dans l'organisme de s'acclimater à leur nouveau milieu avant d'être libérées.

On a vu enfin que les divers auteurs précédemment cités avaient pu déterminer l'infection charbonneuse par injection dans de nombreux organes, tout en épargnant la peau : muqueuse conjonctivale et muqueuse linguale ou buccale (en injections), péritoine, plèvre, muscles, foie, cerveau.

Il en résulte qu'on peut concevoir comme à peu près certaine la possibilité de déterminer l'infection charbonneuse chez le lapin et le cobaye par les voies les plus diverses en respectant la peau ; et que, même si l'on devait reconnaître à la peau une sensibilité élective, il

n'est pas possible de lui accorder une sensibilité exclusive.

* * *

Dès lors, il apparaît clairement que la conception d'immunité locale cutanée appliquée à l'immunité anticharbonneuse ne saurait être considérée comme légitime. Peu importe le mode d'obtention de cette immunité ; peu importe l'absence des anticorps dans le sérum des animaux immunisés ; l'hypothèse en effet, se heurtant aux faits observés, ne saurait prévaloir. Or, il est bien évident que si un animal dont l'organisme entier est vulnérable devient immun dans tous ses organes à la suite d'une vaccination faite par voie cutanée, c'est que l'immunité obtenue est générale et non pas localisée au tégument ; c'est qu'il n'y a pas cuti-immunité, mais immunité tout court. Ceci n'empêche pas, bien entendu, d'envisager l'état réfractaire comme de nature tissulaire et d'attribuer aux cellules vivantes les propriétés qu'on ne peut déceler dans les humeurs, mais si tel mécanisme est vrai, il est vrai pour tous les tissus et il n'est pas permis de le circonscrire au revêtement tégumentaire seul.

ESSAI D'INTERPRÉTATION DU MÉCANISME DE L'INFECTION CHARBONNEUSE ET DE L'IMMUNISATION PAR LA VOIE CUTANÉE

Il n'en demeure pas moins des travaux de M. Besredka et des auteurs qui l'ont suivi, que la voie cutanée

semble, tout au moins chez les petits animaux de laboratoire, une voie de choix pour déterminer tant l'infection charbonneuse que l'immunité anticharbonneuse, et il y a lieu de se demander si ce fait est bien lié à une sensibilité, non pas exclusive, nous le savons, mais du moins élective de la peau. Il est hors de doute que le péritoine du cobaye, résistant vis-à-vis de beaucoup d'infections, le soit particulièrement vis-à-vis de la bactériémie charbonneuse, et cette résistance est probablement imputable à une défense leucocytaire énergique. Il n'est pas moins net que le milieu sanguin soit relativement rebelle à la pullulation microbienne; la possibilité d'injecter dans le cœur des doses qui seraient mortelles sous la peau en fait foi. D'ailleurs, on a vu que M. Boquet est parvenu à déterminer, par voie digestive, des bactériémies charbonneuses curables. D'autre part, l'examen systématique du sang chez les cobayes morts de charbon, montre qu'à côté des cas où la bactériémie pullule dans le sang circulant, il en existe d'autres où la septicémie ne peut être mise en évidence que par l'hémoculture, et ceci alors même que la rate, hypersensible à l'infection, fourmille de germes.

La peau apparaît-elle, à l'opposé du péritoine et du sang circulant, comme un tissu hypersensible? Rien ne permet de l'affirmer, nous l'avons déjà dit plus haut.

Il est tout d'abord remarquable que, chez le cobaye, au contraire de ce qu'on voit chez l'homme, la pustule maligne, chancre d'inoculation du charbon, n'existe pas; c'est là un singulier caractère pour un tissu particulièrement sensible, de ne pas répondre à l'inoculation locale

de germes éminemment dangereux par une réaction violente et nécrosante. On sait, d'autre part, que dans la peau de l'animal mort de septicémie charbonneuse, on n'observe en aucun cas de bactériidies libres dans l'épiderme ni dans le derme; que, dans la peau inoculée en surface, la recherche microscopique est impuissante à déceler le germe, même quand il s'agit d'une peau prélevée en pleine réaction locale (à la condition toutefois que ces prélèvements de peau soient pratiqués sur l'animal vivant); c'est seulement quand l'animal est mort ou à la période agonique que les bactériidies se montrent en grande abondance dans le tégument par où a pénétré l'infection, absolument comme s'il s'agissait d'une multiplication tardive et postérieure à la réaction locale. D'ailleurs, cette pullulation s'opère dans l'hypoderme et dans les couches profondes du derme, respectant l'épiderme et la partie superficielle du derme. Dernière constatation enfin, nous avons vu que l'infection charbonneuse peut se produire à travers une peau qui a perdu sa sensibilité et, par conséquent, sans déterminer de réaction inflammatoire locale.

Tous ces faits, sans constituer un élément de certitude, créent une forte présomption en faveur de la grande résistance de la peau à l'infection charbonneuse, et non pas de sa particulière sensibilité. Ils conduisent à se demander si la sévérité particulière de l'inoculation cutanée n'est pas imputable à une propriété bactérienne. C'est précisément l'hypothèse de M. Combiesco. Cet auteur attache une grande importance à l'encapsulation des bactériidies dans l'infection charbonneuse. Ces

germes, tels qu'ils sont lorsqu'ils proviennent d'une culture ne sont pas encapsulés ; sous cette forme, ils sont très sensibles à la phagocytose, et inoculés dans l'organisme, sont pour la majeure partie détruits. Mis au contraire en contact d'un milieu albumineux animal tel que le plasma, ils s'encapsulent, deviennent sous cette forme résistants à la phagocytose et acquièrent par conséquent un pouvoir infectant beaucoup plus grand. L'expérience des tubes de culture bouchés au coton et introduits sous la peau paraît favorable à cette interprétation ; la rupture des tubes détermine constamment l'infection, parce que les bactériidies demeurées vivantes y sont encapsulées, au contraire des tubes scellés dont la rupture met en liberté des bactériidies vulnérables et de ce fait, peut ne pas entraîner de septicémie. A la faveur de cette hypothèse, on conçoit assez aisément comment peut agir la peau ; elle permet la pénétration lente de bactériidies dans l'organisme ; pendant ce trajet, les germes virulents n'étant pas soumis au danger de la phagocytose et se trouvant en contact des albumines animales s'encapsulent, et quand ils parviennent dans les tissus lâches ou dans les capillaires sanguins ou lymphatiques, ils sont en état de se multiplier à l'abri des défenses organiques naturelles. Ainsi s'explique, que par la peau, une moindre quantité de bactériidies puisse déterminer l'infection.

On a vu que M. Gratia faisait intervenir dans l'infection charbonneuse une autre propriété, microbienne elle aussi, qui est l'existence de deux races de bactéries distinctes, d'ailleurs réversibles, et dont l'une consti-

tue une vraie forme de résistance capable d'infecter l'animal à coup sûr par n'importe quelle voie.

Quoi qu'il en soit de l'explication destinée à prévaloir, il n'est pas douteux qu'une propriété microbienne distincte de la virulence intervienne dans l'infection charbonneuse ; la preuve en est que la quantité de bactériidies nécessaires pour déterminer l'infection par voie sanguine est beaucoup plus faible quand on inocule du sang charbonneux que lorsqu'on inocule des bactériidies provenant d'une culture, fût-elle de virulence exaltée. Les expériences ci-dessus relatées d'infection par voie intracardiaque ou intraveineuse en font foi. Il y a donc grande vraisemblance à supposer que l'adaptation microbienne au milieu de l'animal inoculé est un facteur indispensable pour que l'infection puisse avoir lieu, et que l'inoculation par la peau, en ralentissant la pénétration des germes et en évitant leur phagocytose immédiate, réalise au mieux cette adaptation. Il est probable même qu'il faut voir, dans l'inégale adaptation à l'animal étudié des souches microbiennes utilisées, la cause de tant de divergences parmi les résultats des expérimentateurs ; on comprendrait ainsi que des souches, paraissant d'une virulence comparable quand on les éprouve par voie cutanée, se comportent d'une façon toute différente quand on les inocule par voie sanguine. L'une est capable d'infecter l'animal d'emblée ; une autre a besoin pour devenir infectante d'une adaptation que la traversée de la peau lui permet d'acquérir.

* * *

Le dernier point qu'il nous reste à discuter est le mécanisme de la vaccination par voie cutanée.

On a vu, et sur ce point les expériences de tous les auteurs concordent, qu'un animal qui a supporté l'inoculation intraveineuse ou intrapéritonéale d'une quantité importante de germes n'est de ce fait aucunement vacciné. Au contraire l'animal qui, à la faveur d'une inoculation cutanée de vaccin, présente une réaction locale, acquiert une immunité qui, renforcée par des inoculations analogues de virulence croissante arrive à être complète ; et cette immunité indépendante de toute production d'anticorps paraît de nature tissulaire. Dans le premier cas, il semble que la brutale destruction des germes par les moyens de défense ordinaires, phagocytose ou lyse, ne laissent dans l'organisme qui en a été le siège « aucun souvenir » suivant l'expression de M. Besredka. Pour que l'immunité se constitue, il faut qu'il y ait lésion locale, qu'il y ait lutte entre le germe pathogène et l'organisme. Mais doit-on pour cela reconnaître à la peau dans cette lutte un pouvoir particulier qui marcherait de pair avec sa sensibilisation ?

Le fait n'est nullement démontré, et dans l'attente d'un procédé de vaccination qui évitera la peau, on peut supposer tout autre le rôle de cette dernière. N'est-ce pas simplement parce que, grâce à l'infection cutanée, l'organisme peut incorporer lentement des produits microbiens diffusibles que l'immunité peut être

acquise par cette voie ? Si par une autre voie, rien de semblable ne peut-être obtenu, il en faut accuser sans doute la sensibilité excessive du cobaye dont l'organisme n'a le choix qu'entre la destruction immédiate des germes introduits ou l'infection fatale.

Ainsi un mécanisme analogue pourrait rendre compte de l'infection et de l'immunisation. Il est même possible que l'analogie soit poussée plus loin encore. Nous avons vu que, si l'infection de la peau déterminant une lésion locale entraîne constamment une septicémie, il n'est pas du tout évident que celle-ci soit la conséquence de celle-là et les deux processus paraissent dans une certaine mesure indépendants. Il est fort possible que la vaccination par voie cutanée elle-même soit indépendante de la lésion locale créée par le vaccin. L'histoire, unique il est vrai, d'un cobaye vacciné à l'aide d'une culture virulente, paraît bien montrer qu'une immunité solide puisse se constituer sans réaction locale de la peau ; j'oserais à peine hasarder une opinion basée sur une seule expérience de caractère si exceptionnel si, dans des recherches déjà signalées, M. Boquet n'avait apporté des faits comparables. Ayant inoculé des souris dans la queue avec une forte dose de deuxième vaccin, puis ayant coupé la queue de ces animaux, M. Boquet a observé chez ceux qui avaient résisté une immunité non douteuse et dans laquelle la peau n'avait aucune participation. On peut donc concevoir que la vaccination par la peau soit produite, non pas du fait de la lésion, mais du fait des germes à la fois adaptés à l'organisme et atténués qui pénètrent en petit nombre et que ce soit le

conflit non plus épidermique mais profond entre l'organisme et ces germes qui engendrent l'immunité. Il s'agit là, bien entendu, d'une hypothèse de travail et rien de plus.

* * *

Si nous résumons les résultats de cette étude sur le charbon, nous voyons qu'elle mène à un certain nombre de conclusions de valeur très inégale. Les premières se présentent avec un caractère de *quasi*-certitude :

1° La voie cutanée représente dans l'infection charbonneuse du cobaye une voie d'inoculation particulièrement dangereuse ; mais, avec des doses convenables sans être pourtant élevées, l'infection peut être obtenue régulièrement par de multiples autres voies et indépendamment de toute infection de la peau ;

2° L'immunité anticharbonneuse obtenue par voie cutanée, intéressant tous les organes, ne saurait de ce fait, être considérée comme une immunité locale (1) ;

Les autres conclusions demeurent, bien entendu, dans le domaine de l'interprétation :

3° La peau ne semble pas douée vis-à-vis de la bactérie charbonneuse d'une sensibilité élective : il semble qu'elle ne favorise l'infection de l'organisme qu'en re-

1. Au moment où je corrige les épreuves de ce travail paraît une note de M. Gratia (*C. R. Biologie*, 20 juin 1924, XCI, no 21, p. 113) qui confirme, presque de point en point, mes expériences et mes conclusions. Ce savant critique la prétendue néceptivité des cellules de la peau, et il attribue la vulnérabilité du tégument à la pauvreté de sa défense leucocytaire. M. Gratia montre que, chez le lapin, l'inoculation intraveineuse de sang charbonneux détermine régulièrement l'infection et il prouve même que la voie sanguine se prête parfaitement à l'immunisation.

tardant l'entrée du virus et en permettant l'adaptation bactérienne qui est le facteur essentiel de cette infection;

4° Le rôle de la peau dans l'immunisation paraît être de même ordre : le tégument semble favoriser la production de l'immunité en laissant pénétrer lentement dans l'organisme soit des produits microbiens solubles, soit peut-être des germes à la fois atténués et adaptés à l'organisme.

CHAPITRE V

ESSAIS D'IMMUNISATION PAR VOIE CUTANÉE VIS-A-VIS DE QUELQUES AUTRES GERMES : BACILLE DIPHTÉRIQUE, BACILLE PARATYPHIQUE B ; BACILLE DE DUCREY

Dans le but d'étendre le domaine des résultats précédemment obtenus, des essais d'immunisation par la voie cutanée ont été effectués à l'aide d'autres germes de propriétés très diverses : bacille diphtérique, bacille paratyphique B, bacille de Ducrey.

ESSAI D'IMMUNISATION DU COBAYE CONTRE LE BACILLE DIPHTÉRIQUE PAR LA VOIE CUTANÉE

Le bacille diphtérique appliqué sur la peau du cobaye fraîchement épilée provoque constamment des lésions locales, mais celles-ci prennent rapidement une forme escarrotique que l'on observe exceptionnellement au cours des autres infections cutanées. Le caractère hautement toxique du bacille diphtérique est évidemment la cause de ces phénomènes particuliers. L'application sur la peau fraîchement épilée de la toxine seule permet d'ailleurs d'obtenir des lésions analogues. Il est très fréquent, lorsque les lésions cutanées sont importantes, que

l'animal succombe à l'intoxication diphtérique (4 sur 6 cobayes inoculés). Quand la guérison survient, l'animal n'a cependant acquis du fait de sa lésion aucune immunité locale ni générale. C'est ce que montre l'expérience suivante :

Cobaye 28. — Reçoit le 23 février 1924 une inoculation de bacilles diphtériques sur un territoire cutané fraîchement épilé ; le 26, toute la région infectée est couverte de lésions caractéristiques papulo-nécrotiques. L'animal guérit au prix de petites pertes de substance.

Le 13 mars, même inoculation sur un autre territoire : Réaction très vive au bout de trois jours, rougeur, infiltration et escarres.

Le 16 mars, une prise de sang est faite à l'animal ; un centimètre cube de son sérum est mis en présence de 100 doses mortelles de toxine diphtérique pendant deux heures ; le mélange est inoculé à un cobaye neuf qui meurt en trente-six heures comme un cobaye témoin.

Le 7 avril, une troisième inoculation de bacilles diphtériques sur la peau détermine une lésion très vive. L'animal meurt au bout de quarante-huit heures.

Deux autres cobayes éprouvés de la même manière ont permis d'observer des phénomènes identiques. On est donc en droit de conclure que l'inoculation de bacilles diphtériques sur la peau du cobaye, lorsqu'elle n'entraîne pas la mort par accidents d'intoxication, est incapable de conférer à l'animal un état réfractaire appréciable : son sérum n'acquiert aucun pouvoir antitoxique et sa peau demeure réceptive.

L'étude de la diphtérie cutanée du cobaye permet de mettre en évidence un fait qui, bien que d'importance secondaire, n'est pas dénué d'intérêt ; c'est l'immunisation locale passive d'un territoire cutané à l'aide du sérum antidiphtérique. Si l'on applique en effet sur la

peau fraîchement épilée du cobaye un pansement au sérum antidiphtérique et qu'on maintienne ce pansement pendant vingt-quatre heures, une inoculation locale de bacilles diphtériques faite le lendemain sur la même zone demeure sans résultat. La propriété ainsi acquise s'explique tout naturellement par la fixation des antitoxines du sérum sur les cellules de la peau, mais il est *intéressant de constater qu'un semblable état réfractaire local ne s'étend pas du tout à la peau environnante* et, dans une faible mesure à l'organisme entier. L'animal est incapable de résister à une inoculation sous-cutanée de 1/4 de centimètre cube de bacilles, mais si on inocule sa peau à distance de la région pansée, il se produit une réaction locale ordinairement non suivie d'accidents toxiques.

Dans un travail récent M. Zoeller (1) a montré que l'inoculation de toxine diphtérique dans le derme du cobaye détermine une lésion rouge et œdémateuse ou escarrotique suivant l'activité de la toxine employée; l'animal n'offre aucune immunité locale, même circonscrite au point d'inoculation, puisqu'une nouvelle inoculation au même point détermine les mêmes phénomènes. Chez l'homme, la réaction de Schick permet de faire des constatations semblables. L'immunité de la peau ne peut donc être produite par la toxine diphtérique inoculée localement, ce qui confirme entièrement ce que nous venons de voir au sujet du bacille diphtérique lui-même.

Une fois de plus, il apparaît donc que la peau ne fait

1. Chr. Zoeller. *Toxine diphtérique et vaccination locale* (C. R. Biologie, XC. 1924, n. 15, p. 1147).

preuve d'aucune indépendance vis-à-vis de l'infection par des germes sans affinités électives pour elle et qu'elle est étroitement subordonnée dans ses réactions à l'état de l'organisme entier. Ni le bacille diphtérique, ni la toxine diphtérique ne peuvent, par des inoculations cutanées successives, entraîner le moindre état réfractaire de la peau ; le maintien de sa réceptivité est parallèle à celui de l'organisme que ces inoculations n'ont pas modifié.

INFECTION DE LA PEAU PAR LE BACILLE PARATYPHIQUE
B CHEZ LE COBAYE. IMMUNISATION COMPARÉE PAR VOIE
CUTANÉE ET PAR VOIE GÉNÉRALE

Les recherches effectuées jusqu'à présent concernent des germes de caractère variable mais qui ne paraissent pas doués en tous cas d'une affinité marquée pour tel organe de l'économie plutôt que pour tel autre. On conçoit qu'il était nécessaire d'effectuer une série d'expériences parallèles à l'aide d'un germe doué d'un tropisme caractérisé pour un organe différent de la peau, l'intestin par exemple. Parmi les espèces microbiennes se prêtant à ces recherches, le bacille paratyphique B a été choisi en raison de la sensibilité très constante du cobaye vis-à-vis de lui. On sait que cet animal peut être aisément infecté par le paratyphique B, et par diverses voies; quand il succombe à l'infection expérimentale, le germe se retrouve en grande abondance dans le tractus digestif (intestin, vésicule biliaire) tandis que sa présence dans le sang est très inconstante ; la maladie

n'est pas une septicémie vraie, mais avant tout une infection des voies digestives et quel que soit le mode d'inoculation le germe tend constamment à gagner l'intestin. Ce tropisme intestinal est maintenant une donnée classique que MM. Ch. Richet fils, Besredka, Balteano ont particulièrement contribué à établir. Et c'est même en se basant sur ce tropisme intestinal que M. Besredka a pu édifier sa théorie de l'entéro-immunité qui constituerait une des variétés de l'immunité locale.

Si, avec un pareil germe, il est possible de déterminer une lésion locale de la peau, et si la voie cutanée permet de réaliser contre lui une immunité au moins partielle de l'animal, il apparaîtra que le rôle de la peau, tant dans l'infection que dans l'immunisation, peut être indépendant de toute affinité élective pour elle du germe étudié. Or c'est précisément ce que démontre l'expérience.

INFECTION DE LA PEAU DU COBAYE PAR LE BACILLE PARATYPHIQUE B. — L'inoculation d'une culture de bacille paratyphique B sur la peau fraîchement épilée du cobaye ne détermine à vrai dire pas constamment une lésion. Chez les deux tiers des animaux inoculés seulement apparaît une réaction cutanée notable dont l'intensité varie suivant les sujets. Quand la réaction est vive, ce qui survient en moyenne une fois sur trois, elle reproduit exactement le type de l'infection cutanée pasteurellienne déjà décrit : dès le lendemain la peau infectée devient rouge, infiltrée, œdémateuse ; bientôt apparaît un

semis de vésico-pustules miliaires dont le contenu, louche, ensemençé, permet de retrouver le paratyphique B, souvent même à l'état de pureté ; rapidement ces vésicules se rompent et se dessèchent, leur contenu concrété en croûtes s'élimine en même temps que se fait une desquamation abondante ; puis la rougeur s'efface et au bout de six à huit jours les lésions ont complètement disparu. La réaction locale est soumise à des variations suivant la réceptivité de l'animal étudié. Elle peut s'exagérer, s'accompagner d'érosions étendues et de suintement sans jamais toutefois devenir escarrotique ; plus souvent elle se réduit à une plaque rouge à peine infiltrée et offrant quelques vésicules, ou bien à une plaque rouge et œdémateuse, sans aucune vésicule, ou enfin à un simple erythème.

L'infection générale de l'organisme par le germe inoculé n'est pas exceptionnelle même à la suite d'une première inoculation, mais cette infection n'est pas liée à la violence des phénomènes inflammatoires locaux, bien au contraire. C'est ainsi que sur 15 cobayes n'ayant pas réagi localement à une première inoculation, quatre sont morts d'infection paratyphique.

L'autopsie a révélé dans ces cas les mêmes lésions : péritoine rouge et d'aspect tomenteux, intestin plein de liquide, vésicule biliaire volumineuse et distendue par un contenu purulent dont l'ensemencement permet de retrouver le bacille paratyphique à l'état de pureté.

Cette absence de toute réaction cutanée locale coïncidant avec la pénétration du germe dans la circulation, puis dans l'intestin est à rapprocher des faits signalés

plus haut au sujet de l'infection streptococcique du lapin : dans les deux cas, l'envahissement de l'organisme par les germes déposés sur la peau paraît s'opposer au développement de toute réaction inflammatoire locale.

ESSAI DE VACCINATION DU COBAYE CONTRE LE BACILLE PARATYPHIQUE B PAR INOCULATIONS CUTANÉES SUCCESSIVES DE CULTURES VIRULENTES. — Dans une série d'expériences en tous points comparables à celles qui ont été antérieurement relatées à propos de la pasteurellose ou du streptocoque, 18 cobayes ont subi des inoculations successives sur des zones de peau différentes, et simplement épilées, avec une culture en bouillon de Bacille paratyphique B datant de vingt-quatre heures.

L'intensité des réactions locales obtenues est assez variable, mais il est à noter que des phénomènes généraux accusés accompagnent les premières inoculations : les animaux sont fatigués et maigrissent ; deux cobayes ont succombé à l'infection paratyphique, l'un après la deuxième inoculation, l'autre après la troisième ; il est vrai de dire que ces animaux avaient été placés dans de mauvaises conditions hygiéniques et que leur peau avait été érodée au rasoir avant l'inoculation ; ces accidents survenus lors des premières expériences ne se sont plus renouvelés dans la suite quand la culture fut appliquée sur la peau n'ayant subi d'autre traumatisme que la simple épilation. C'est un point sur lequel il convient d'insister et qui suffit à expliquer les premiers échecs.

Parmi les autres animaux mis en expérience, deux seulement ont présenté des réactions cutanées constamment très médiocres, réduites à un simple érythème.

Ces animaux ont survécu, mais leur sérum n'a acquis aucun pouvoir agglutinant : il semble que ces cobayes soient demeurés indifférents à l'application sur le tégument du germe pathogène.

Par contre, chez les cobayes du dernier lot, le plus important, se sont produites des réactions cutanées vives qui ont pu être renouvelées ensuite. Chez les uns (4 cobayes), la répétition des inoculations n'a pas permis de constater une atténuation des phénomènes inflammatoires locaux et la réceptivité cutanée est demeurée entière. Voici le protocole d'une de ces expériences :

Cobaye 81. — Première inoculation le 26 avril 1924.

Réaction moyennement positive le 29 (rougeur).....	+
Le 1 ^{er} mai, 2 ^e inoculation, réaction très forte.....	+++
Le 6 mai, 3 ^e — —	+++
Le 11 mai, 4 ^e — —	+++
Le 19 mai, 5 ^e — —	+++
Le 22 mai, 6 ^e — —	+++

Le même jour, pouvoir agglutinant du sérum nul.

Le 28 mai, 7 ^e inoculation, réaction très forte.....	+++
---	-----

Chez les autres cobayes les inoculations successives ont déterminé des réactions locales, ou bien d'abord très fortes, puis progressivement décroissantes, ou bien d'abord faibles puis croissantes, enfin de nouveau atténuées, attestant une immunisation tégumentaire non douteuse.

Voici les protocoles de deux de ces expériences :

Cobaye 95. — Première inoculation cutanée le 6 mai 1924.

Réaction faiblement positive au 3 ^e jour.....	+
Le 9 mai, 2 ^e inoculation, réaction très forte.....	+++
Le 14 mai, 3 ^e — — — — —	+++
Le 19 mai, 4 ^e — — — — — réaction médiocre.....	+
Le 22 mai, 5 ^e — — — — — réaction très faible.....	+

La séro-réaction agglutinante recherchée le même jour est positive au 1/250.

Cobaye 48. — Première inoculation cutanée le 9 mai 1924.

La réaction cutanée, médiocre le 2 ^e , jour devient très forte le 4 ^e , œdémateuse et vésiculeuse.....	+++
Le 14 mai, 2 ^e inoculation, réaction très forte.....	+++
Le 19 mai, 3 ^e — — — — — réaction médiocre.....	+
Le 22 mai, 4 ^e — — — — — réaction très faible.....	+

La séro-réaction agglutinante est le même jour positive au 1/500.

Le 28 mai, 5^e inoculation cutanée, réaction nulle.....: O.

Ces expériences montrent que, dans la majorité des cas, il est possible de voir diminuer progressivement ou même disparaître la réceptivité du tégument, en pratiquant des inoculations cutanées successives de cultures virulentes. S'agit-il d'une immunité acquise circonscrite au tégument, ou bien au contraire d'une immunité générale développée peu à peu ? C'est à quoi permettent de répondre, d'une part la recherche des agglutinines dans le sérum, d'autre part l'inoculation d'épreuve intrapéritonéale d'une dose de culture mortelle pour un animal témoin.

La recherche des agglutinines a été pratiquée chez tous les animaux mis en expérience, au bout de 4 ou 5 inoculations. Elle a donné des résultats variables chez les animaux dont les réactions cutanées ne tendaient pas à décroître. Deux fois complètement nulle, la séro-

réaction a été faiblement positive (au 1/50 et 1/150) chez les deux autres. Par contre chez les cobayes dont les réactions cutanées s'atténuaient progressivement, le pouvoir agglutinant du sérum a pu dans tous les cas, être mis en évidence, mais son taux a varié du 1/100 au 1/500. D'une façon générale la diminution de la réceptivité cutanée paraît donc coïncider avec l'apparition d'anticorps dans les humeurs sans que le parallélisme entre les deux phénomènes soit toutefois absolu.

L'inoculation d'épreuve intrapéritonéale donne, au contraire de la précédente recherche, des résultats très précis, ainsi qu'il résulte des expériences suivantes prises comme types:

Cobaye 34. — Reçoit 5 inoculations cutanées du 6 mai au 28 mai 1924, toutes suivies d'une réaction locale fortement positive.

Le 22 mai, la séro-réaction agglutinante est négative au 1/50.

Le 31 mai, inoculation intrapéritonéale de 3/10 de centimètre cube de culture virulente. L'animal survit.

Cobaye 48 (déjà cité). — Reçoit 5 inoculations cutanées du 9 mai au 28 mai 1924; les réactions locales sont régulièrement décroissantes et la dernière inoculation (28 mai) ne détermine aucun phénomène inflammatoire.

Le 22 mai, la séro-réaction agglutinante est positive au 1/500.

Le 31 mai, inoculation intrapéritonéale de 3/10 de centimètre cube de culture virulente. L'animal survit:

Cobaye 17. — Reçoit 4 inoculations successives déterminant les réactions suivantes:

Le 11 mai.....	+ faible
Le 14 mai.....	++
Le 19 mai.....	+ faible
Le 29 mai.....	O

La séro-réaction agglutinante pratiquée le 22 mai est faiblement positive au 1/100.

Le 31 mai, inoculation intrapéritonéale de 3/10 de centimètre cube de culture virulente.

L'animal survit.

Cobaye témoin neuf. Reçoit le 31 mai dans le péritoine 3/10 de centimètre cube de culture virulente. L'animal meurt d'infection paratyphique au bout de 48 heures.

Ces expériences montrent qu'une immunité générale solide contre le paratyphique B peut être acquise à la suite d'inoculations cutanées successives, et alors même que, déposé sur la peau, le bacille est encore capable de déterminer des réactions locales.

Ainsi qu'on l'a vu plus haut à propos de l'infection pasteurellienne, non seulement l'état réfractaire de la peau déterminé par l'infection cutanée ne précède pas l'apparition de l'immunité générale mais il semble, dans certains cas du moins, lui être postérieur. Ici encore la voie d'introduction du virus qui permet de circonscrire l'infection ne modifie en rien les caractères de l'immunité acquise par l'animal. Tout au plus peut-on noter que dans l'état réfractaire ainsi produit, le taux des agglutinines est habituellement médiocre, parfois même nul.

IMMUNISATION DU COBAYE PAR LA VOIE CUTANÉE A L'AIDE DE GERMES TUÉS. — Parallèlement à cette étude l'immunisation du cobaye a été recherchée en appliquant sur la peau fraîchement épilée des corps microbiens tués et incorporés à de l'axonge fraîche. Voici deux expériences prises comme types :

Cobaye 67. — Le 7 mai 1924 application sur la peau fraîchement épilée d'une émulsion riche de germes tués par la chaleur dans de l'axonge (aucune réaction locale). La même application est renouvelée, chaque fois sur une nouvelle zone de peau, les 10 et 16 mai.

Le 22 mai une inoculation cutanée d'épreuve de germes vivants

détermine une réaction faiblement positive ; le même jour *la séro-réaction agglutinante est positive au 1/200.*

Le 31 mai l'animal reçoit une inoculation d'épreuve de 3/10 de centimètre cube de culture en bouillon de vingt-quatre heures dans le péritoine en même temps qu'un témoin.

L'animal survit tandis que le témoin meurt en quarante-huit heures.

Cobaye 90. — Reçoit aux mêmes dates que le précédent animal trois applications de germes tués incorporés à de l'axonge.

Le 22 mai une inoculation cutanée d'épreuve ne détermine qu'une très faible rougeur. Le même jour *la séro-réaction agglutinante est très fortement positive au 1/1250.*

La même inoculation d'épreuve intra-péritonéale est pratiquée le 31 mai. L'animal survit.

Six autres cobayes vaccinés de la même manière ont acquis une immunité solide, mais chez ces derniers animaux *la séro-réaction est demeurée négative.*

Ainsi, en employant des germes tués et en évitant de ce fait toute réaction locale de la peau il est possible d'immuniser par voie cutanée le cobaye contre le bacille paratyphique B. — Cette immunisation, ne s'accompagne souvent pas de la présence d'anticorps dans les humeurs, mais il ne s'agit pas là d'une loi constante puisque dans un cas, on vient de le voir, le pouvoir agglutinant du sérum s'est montré particulièrement fort.

ACTION DE L'IMMUNISATION ANTIPARATYPHIQUE B PAR VOIE GÉNÉRALE SUR LA RÉCEPTIVITÉ DE LA PEAU. — Dans le but de comparer l'immunité obtenue par la voie cutanée et celle que détermine l'inoculation dans l'organisme de germes tués, quatre cobayes ont été vaccinés par voie générale et éprouvés ensuite comme les précédents. Voici le protocole d'une de ces expériences :

Cobaye 79. — Reçoit le 10 mai 1924 sous la peau 1/2 centi-

mètre cube d'une émulsion de bacilles paratyphiques B tués par chauffage de quarante minutes à cinquante-six degrés.

Le 14 et le 22 mai inoculation sous-cutanée de 1 centimètre cube d'une émulsion semblable.

La séro-réaction agglutinante pratiquée le 29 mai est faiblement positive au 1/50.

Le 28 mai une inoculation cutanée de germes vivants ne détermine aucune réaction locale.

Le 31 mai l'animal reçoit dans le péritoine 3/10 de centimètre cube d'une culture en bouillon de vingt-quatre heures de paratyphique B. L'animal survit.

Les trois autres animaux vaccinés de la même façon ont présenté des réactions agglutinantes positives au 1/250; l'inoculation cutanée d'épreuve n'a déterminé chez eux qu'une réaction à peu près nulle; enfin ils ont résisté comme le précédent à l'inoculation intrapéritonéale.

Etant en possession de ces données il est désormais possible d'énoncer les conclusions suivantes qui s'accordent pleinement avec celles des précédents chapitres :

1° Avec un germe doué d'un tropisme intestinal reconnu, tel que le bacille paratyphique B il est possible de déterminer sur la peau sensibilisée par l'épilation une infection purement locale et circonscrite au territoire inoculé.

2° L'infection cutanée répétée à plusieurs reprises est capable d'engendrer l'immunité générale de l'animal. Celle-ci est acquise au moment où la peau est devenue réfractaire aux inoculations d'épreuve, mais elle peut même devancer l'apparition de l'immunité cutanée. Enfin la présence d'anticorps (agglutinines) dans les humeurs

accompagne, mais d'une manière inconstante, l'état réfractaire de l'animal.

3. Il est possible d'immuniser le cobaye contre le bacille paratyphique par application sur la peau de germes tués incorporés à l'axonge, en l'absence de toute lésion locale.

4. Il n'existe donc aucune différence appréciable entre l'immunité acquise par voie cutanée ou par toute autre méthode, mais il est important de remarquer que cet état réfractaire peut être facilement obtenu par la mise en contact de l'antigène microbien avec un tissu qui n'offre pour lui aucune affinité.

ESSAIS D'IMMUNISATION DU SINGE CONTRE LE BACILLE DE DUCREY COMPARATIVEMENT PAR VOIE CUTANÉE ET VOIE GÉNÉRALE

Quelques recherches encore incomplètes faites sur le bacille du chancre mou méritent de figurer à la fin de ce travail. Elles représentent en effet la contrepartie de toutes celles qui ont été faites jusqu'à présent, et conçues dans un autre sens, mènent à des conclusions générales identiques.

A l'encontre de tous les germes envisagés précédemment en effet, le bacille de Ducrey est doué d'un dermatotropisme tout à fait particulier. Il est même le seul parmi les germes visibles qui possède une affinité élective pour la peau aussi manifeste. La clinique enseigne qu'il se développe mieux sur le revêtement cutané des organes génitaux que sur les muqueuses génitales dont

la structure est cependant très analogue. Au delà de cette lésion cutanée primitive, le bacille de Ducrey peut engendrer des lymphangites et des adénites suppurées mais, en aucun cas, il ne se montre capable de produire une infection générale de l'organisme. Vis-à-vis d'un germe possédant de pareilles propriétés, il semblait *a priori* que l'immunisation par voie locale dût reprendre ses droits et qu'une cuti-vaccination génératrice d'un état réfractaire de la peau dût, mieux que tout autre procédé, assurer la protection de l'organisme.

Les données généralement admises que fournit la clinique, sont que l'infection chancreuse humaine ne détermine aucune espèce d'immunité, qu'elle peut se reproduire un grand nombre de fois chez un même sujet et que l'inoculation du chancre mou peut être autant qu'on veut répétée chez le malade qui en est atteint.

Cependant en 1905, Thibierge, Ravaut et Le Sourd (1) ont signalé que les inoculations de chancre mou ne réussissaient souvent que les deux premières fois. Fontana (2) en 1911, est arrivé à la même conclusion. Dernièrement Reenstierna (3), ayant pratiqué dans une même zone du tégument des inoculations successives, a vu la réceptivité de la peau diminuer, disparaître même au bout d'un mois pour reparaitre quatre semaines plus tard. Ces expériences tendraient à prouver que chez l'homme, l'infection chancreuse détermine un certain

1. Thibierge, Ravaut et Le Sourd, *Annales de Dermat. et de Syphil.*, 1905.

2. Fontana, *Centr. für Bakt.*, 1911.

3. Reenstierna, *Archives de l'Institut Pasteur de Tunis*, XII, 1923, n° 2, p. 249.

degré d'état réfractaire de voisinage. Mais semblable fait ne saurait être jusqu'à présent considéré comme définitivement acquis.

On sait que le singe, bien que souvent moins sensible que l'homme au bacille de Ducrey, offre cependant une réceptivité suffisante pour permettre l'étude de ce germe. Une série d'expériences ont été entreprises chez un singe callitriche, tout d'abord dans le but de savoir s'il était possible, par la voie cutanée et en employant diverses méthodes, d'immuniser cet animal. La culture de streptobacilles utilisée a été obtenue en partant d'un chancre de réinoculation expérimentale dont l'exsudat a été ensemencé sur milieu au sang de lapin défibriné selon la technique de Reenstierna modifiée par Ch. Nicolle (1).

Cette culture a été conservée par repiquages successifs à la fois sur milieu solide au sang de lapin et sur bouillon sérum de lapin. (Ce dernier milieu se prête particulièrement bien à la conservation du germe).

Voici la première série d'expériences.

Singe callitriche ♀. — Le 17 mars 1924 : 2 inoculations sont pratiquées sur la cuisse gauche en déposant du pus chancrelleux provenant d'un chancre de réinoculation humaine, sur une scarification faite au vaccinostyle.

Le 19 mars, l'animal présente deux chancres mous typiques ; l'examen microscopique et la culture permettent d'y retrouver le bacille de Ducrey. Cette première épreuve permet donc d'affirmer la réceptivité de l'animal vis-à-vis du streptobacille.

Le 22 mars, une émulsion de bacilles de Ducrey desséchés dans de l'axonge, est appliquée sur une zone cutanée du dos,

1. Ch. Nicolle, *Isolement, culture et conservation du bacille de Ducrey* (C. R. Biologie, 14 avril 1913, n° 12, LXXXVIII, p. 871).

tandis qu'une zone témoin est badigeonnée avec de l'axonge seule.

Le 24, les deux zones sont inoculées avec une culture de bacilles de Ducrey provenant du même animal.

Le 26, deux chancres mous typiques et identiques apparaissent sur les deux zones : l'examen direct et la culture permettent d'y retrouver le streptobacille (2 cautérisations successives sont nécessaires pour arrêter l'évolution de ces chancres).

Le 31 mars, deux pansements sont appliqués sur les jambes préalablement épilées :

La jambe droite reçoit un pansement avec un filtrat de culture en bouillon-sérum de lapin datant de huit jours ; la jambe gauche un pansement avec un autolysat de bacilles dans l'eau distillée, après une semaine de contact.

Le 2 avril une inoculation de culture en milieu liquide de bacilles de Ducrey est faite par scarification sur chacune des deux zones pansées. Deux inoculations témoins sont pratiquées, l'une tout près d'une lésion chancreuse antérieure cicatrisée, l'autre à distance sur une zone de peau neuve.

Le 5 avril apparaissent au niveau des inoculations témoins deux chancres typiques ; deux autres, moins développées toutefois, sont visibles sur les deux jambes.

Ces expériences montrent tout d'abord que chez un singe réceptif vis-à-vis du streptobacille, les inoculations peuvent être répétées en des points quelconques du tégument sans que diminue l'intensité des lésions obtenues ; tout comme on l'observe chez l'homme, l'infection chancreuse de la peau est incapable de déterminer l'état réfractaire du tégument, même dans le voisinage immédiat d'un point antérieurement inoculé.

D'autre part, l'application de germes tués ou de filtrats de culture âgée sur une zone de peau préalablement épilée, ne permet pas davantage l'immunisation locale ; dans un cas, il semble qu'une légère diminution de réceptivité ait été observée ; dans un autre le résultat fut complètement nul.

Ainsi, à l'égard du bacille de Ducrey, les diverses méthodes de vaccination locale par la voie cutanée n'aboutissent qu'à un échec.

Si au contraire on inocule par la voie sous-cutanée des bacilles de Ducrey tués ou vivants, peut-on espérer obtenir l'immunisation de la peau ? C'est ce que va nous montrer l'expérience suivante pratiquée chez le même animal dont la réceptivité vis-à-vis du streptobacille nous est par conséquent connue :

Singe callitriche. — Le 9 avril 1924, inoculation sous-cutanée de 1 centimètre cube d'une émulsion assez dense de bacilles de Ducrey tués par chauffage de trente minutes à 45 degrés.

Le 14 avril : même inoculation.

Le 22 avril : inoculation sous-cutanée de 1 centimètre cube d'une émulsion de bacilles *vivants* provenant d'une culture en bouillon-sérum de lapin centrifugée. L'inoculation est faite en évitant autant que possible la souillure de la peau ; aucun reflux ne se produit et le point de pénétration est cautérisé au thermocautère. Cette inoculation ne produit aucune espèce d'accidents locaux ni généraux.

Le 29 avril : même inoculation de bacilles vivants.

Le 1^{er} mai : troisième inoculation semblable.

Le 6 mai : la sensibilité cutanée de l'animal est éprouvée par deux inoculations sur la cuisse gauche ; l'une de pus de chancre mou, l'autre de culture de bacille de Ducrey ; toutes deux demeurent négatives.

Le 9 : un pus chancrelleux de provenance différente est inoculé sans résultat.

Le 10 : trois inoculations sont faites avec du pus de chancre de réinoculation humaine : aucune lésion n'apparaît.

Le 14 : deux inoculations encore sont effectuées sans succès avec du pus chancrelleux d'une autre provenance. La réaction de fixation pratiquée le même jour est fortement positive.

Ces résultats, on le voit, bien qu'observés sur un seul animal, sont tout à fait probants : un singe qui se laissait réinoculer à de multiples reprises des chancres

mous, soit à partir de cultures, soit à partir de pus chancrelleux, devient, après une série d'injections sous-cutanées de bacilles tués puis de bacilles vivants, complètement réfractaire à toute tentative d'infection cutanée. Il n'est pas douteux que l'immunité générale ait été obtenue par cette méthode et que la peau ait bénéficié de cette immunité alors que tous les essais de vaccination par voie cutanée avaient complètement échoué.

On peut rapprocher avec intérêt de ces expériences les résultats obtenus par divers auteurs dans leurs essais d'immunisation de l'homme vis-à-vis du chancre mou. La vaccinothérapie du chancre mou et du bubon chancrelleux a été tentée chez l'homme à l'aide de cultures de streptobacilles tuées par Tetsuta Ito (1) en 1913 ; cet auteur a enregistré de bons résultats dans le traitement des bubons, mais n'a pas obtenu par ce procédé la guérison des chancres ; Kurita (2) en 1919, a traité également de la même manière avec succès un certain nombre de bubons chancrelleux. Stumpke (3) en 1921, a employé pour le traitement du chancre mou des émulsions de bacilles de Ducrey tués par chauffage et additionnées d'une quantité égale de solution phéniquée à 10/0 en injections intramusculaires ou intraveineuses. L'auteur a obtenu par ce procédé la guérison des chancres mous au bout de trois ou quatre injections et sans traitement antiseptique local.

Dernièrement enfin Reenstierna (4) a essayé l'immuni-

1. Tetsuta Ito, *Arch. für Dermat. u. syphilis*, 1913, CXVI, p. 341.

2. Kurita, *Bull. of. naval. medic. assoc. of. Japan*, 4 avril 1919.

3. Stumpke, *Deutsche medic. Woch*, 3 novembre 1921.

4. Reenstierna, *Essais de vaccination préventive par l'emploi des cul-*

sation préventive, contre le chancre mou chez l'homme. Cet auteur a employé des injections intramusculaires successives et à doses croissantes de bacilles de Ducrey morts (émulsion de bacilles phéniquée à 0,5 o/o et datant de six mois). Ces injections ont déterminé des réactions thermiques assez vives. Sur deux sujets qui se sont prêtés à cette expérience, l'un a résisté à des inoculations d'épreuve faites avec du pus de chancre mou ; l'autre s'est montré réceptif, mais a présenté seulement des lésions atténuées. La vaccination contre le chancre mou est donc possible chez l'homme par la voie générale.

Mentionnons également que M. Reenstierna (1) a essayé la sérothérapie du chancre mou en employant du sérum de bœuf immunisé par voie générale ; mais ce mode de traitement n'a pas donné à lui seul des résultats suffisamment nets pour avoir une valeur démonstrative.

Dans un autre ordre d'idées, il est important de signaler les effets locaux d'une culture de streptobacilles tués en injection intradermique chez les malades atteints d'infection chancreuse. De très nombreux essais de cet ordre ont permis à M. Reenstierna (1) de montrer que, chez les sujets atteints de lésions cutanées ou ganglionnaires dues au streptobacille, ou bien guéris de ces affections, une semblable cuti-réaction détermine une papule rouge entourée d'une large aréole

tures mortes de bacille de Ducrey contre l'infection streptobacillaire et la peste (Archives de l'Institut Pasteur de Tunis, XII, 1923, no 2, p. 249).

1. Reenstierna, *Recherches sur le bacille de Ducrey (Archives de l'Institut Pasteur de Tunis, XII, 1923, n° 3, p. 273).*

inflammatoire. Dans certains cas même, la réaction prend un aspect vésiculeux. Ce phénomène a une valeur spécifique ; il ne se produit pas chez les sujets sains ou atteints d'une affection autre que le chancre mou. J'ai eu l'occasion de faire dans le service du Dr Milian à l'hôpital Saint-Louis quinze cuti-réactions chez divers malades avec une culture de streptobacilles tués ; les résultats ont été identiques à ceux que rapporte M. Reenstierna.

Ces réactions cutanées, indépendamment de l'intérêt pratique qu'elles offrent dans le diagnostic étiologique de certains bubons, ont aussi une portée théorique ; elles montrent en effet que le chancre mou, bien que maladie locale, est susceptible d'entraîner des modifications générales de l'organisme que traduit cette particulière sensibilité de la peau. Sans vouloir pousser trop loin un rapprochement peut-être plus apparent que réel, il est permis de comparer ces phénomènes, de type allergique, aux résultats de certaines cuti-réactions faites avec le streptocoque tué ou la tuberculine et de penser qu'ils expriment un état imparfait d'immunité générale.

Si l'on envisage l'ensemble des recherches concernant l'immunité vis-à-vis du bacille de Ducrey, on voit que malgré l'affinité élective de ce germe pour la peau, les infections cutanées même répétées sont incapables d'engendrer ultérieurement l'état réfractaire du tégument ; il en est de même des diverses tentatives de vaccination locale. L'infection chancreuse ne laisse pas cependant l'organisme indifférent, elle détermine cette susceptibilité spéciale qui semble l'apanage des états d'immunité

incomplète et dont la réaction cutanée à type allergique est le témoignage visible.

Au contraire, dans des cas encore peu nombreux il est vrai, l'introduction dans l'organisme de streptobacilles tués ou vivants a pu déterminer l'immunité complète, en dehors de toute intervention apparente de la peau. Cette étude, encore inachevée, sera reprise, sous la direction de M. le professeur Teissier. Des expériences confirmatives sont nécessaires, mais il apparaît d'ores et déjà que *l'affinité élective d'un germe pour la peau n'implique pas nécessairement qu'on doive recourir à la vaccination locale pour obtenir l'immunité vis-à-vis de ce germe, cette méthode pouvant aboutir en pareil cas à un échec complet alors que la vaccination générale conduit à un succès évident.*

CHAPITRE VI

IMMUNISATION PAR LA VOIE CUTANÉE IMMUNITÉ GÉNÉRALE ET IMMUNITÉ DE LA PEAU

Les recherches exposées dans les chapitres précédents peuvent sembler au premier abord quelque peu disparates. Elles furent effectuées, en effet, tantôt sur un animal, tantôt sur un autre, et vis-à-vis de germes très divers, tant par leur pouvoir pathogène que par leur aptitude à susciter des réactions d'immunité. Si pourtant de cet ensemble, peuvent se dégager un certain nombre de conclusions applicables à tous les cas, la diversité des objets d'étude ne peut que leur donner plus de valeur et conduire même à leur accorder une extension plus grande. Or, ces conclusions sont fort possibles, mais pourtant je me garderai bien de les tenir pour valables au delà du domaine exploré. Cette réserve est d'autant plus nécessaire que les recherches relatées plus haut concernent pour la plupart des germes d'infection banale, et que ni le bacille de Koch, ni les Spirochétidés, ni les divers virus filtrants dermatropes par exemple ne se trouvent compris dans leur cadre. Ces divers agents infectieux déterminent des réactions biologiques si particulières qu'aucun essai de généralisation ne saurait *a priori* les atteindre.

Les déductions contenues dans l'exposé synthétique qui va suivre n'ont donc pas la prétention de dépasser la portée des recherches effectuées ; mais elles visent à montrer l'imprudence des généralisations hâtives faites en sens inverse et qui sont la tendance actuelle. De ce que l'étude de certains virus filtrants a conduit à la notion nouvelle de spécificité tissulaire, tant pour l'infection que pour l'immunité, il ne s'ensuit pas que cette notion doive s'emparer aussitôt de la bactériologie entière et se substituer à toutes les conceptions antérieures. C'est là le point essentiel qui me paraît devoir être mis en lumière.

L'INFECTION PAR VOIE CUTANÉE. CARACTÈRE BANAL DE LA RÉACTION LOCALE

Le premier lien commun qui réunit les différentes infections étudiées est la réceptivité de la peau, sous condition d'une sensibilisation préalable, vis-à-vis de germes multiples et sans affinité élective pour elle ; cette constatation conduit à voir dans l'infection locale du tégument un phénomène assez banal et n'indiquant aucun tropisme microbien déterminé.

En effet, chez le lapin trois souches de méningocoques et de nombreuses souches de streptocoques ont permis de déterminer une réaction cutanée inflammatoire ; des réactions très analogues furent obtenues chez le cobaye avec une *pasteurella*, avec une souche de staphylocoque, avec la bactérie charbonneuse, le bacille diphtérique, le bacille paratyphique B. Or si parmi tous ces germes,

il en est, tel le streptocoque, auxquels on reconnaît au moins chez l'homme une certaine affinité pour la peau ; s'il en est un autre, la bactérie charbonneuse, auquel on prête — à mon avis sans preuves suffisantes — une affinité cutanée élective ; d'autres, tels que la pasteurella, apparaissent comme des germes d'infection septicémique et dénués de toute faculté d'infecter un tissu plutôt qu'un autre ; le dernier enfin, le paratyphique B, est doué d'un tropisme intestinal non douteux.

Et cependant tous ces germes peuvent déterminer une réaction cutanée locale fort comparable ; si l'on excepte les lésions un peu spéciales dues au bacille diphtérique on observe, avec les microbes énumérés plus haut, des phénomènes du même ordre : rougeur érysipélateuse, avec infiltration plus ou moins profonde, et à un degré de plus formation de vésico-pustules superficielles. L'ensemencement des vésico-pustules démontre que le germe inoculé a pu se développer dans une certaine mesure à la surface de la peau ; mais par contre l'examen histobactériologique ne révèle ni dans un cas ni dans l'autre, (sauf à la phase agonique du charbon toutefois) une véritable pullulation microbienne dans l'épaisseur du tégument, quelle que soit l'intensité de la lésion. Il s'agit donc d'une infection superficielle accompagnée de réactions inflammatoires sous-jacentes d'intensité variable.

Mais si les ressemblances sont grandes entre ces infections cutanées, des différences considérables apparaissent quand on vient à envisager les conditions d'apparition et les modalités de l'infection générale qui peut leur succéder. Avec la pasteurellose, nous avons vu que

la réaction locale n'entraîne en général aucune infection de l'organisme, et que pour déterminer par cette voie une septicémie, il faut s'adresser à une culture d'une virulence exaltée au maximum. Avec le streptocoque, les réactions les plus intenses ne sont également suivies de septicémie mortelle que dans des cas tout à fait exceptionnels. Pour ce qui est du paratyphique B, l'infection générale est déjà moins rare; elle survient assez fréquemment au bout de deux ou trois inoculations cutanées positives. En ce qui concerne le charbon, la septicémie consécutive à la réaction cutanée est par contre la règle absolue. Dès qu'on voit apparaître une lésion locale après l'application d'une culture virulente on peut être assuré de la mort prochaine de l'animal. C'est évidemment entre l'infection pasteurellienne et l'infection charbonneuse que l'opposition des résultats est la plus flagrante, puisque dans ces deux cas la virulence du germe est considérable pour le cobaye et que l'infection cutanée, presque inoffensive dans l'une, est constamment mortelle dans l'autre.

Faut-il donc voir dans les réactions cutanées obtenues, pourtant bien comparables, là un processus de défense contre l'infection, ici au contraire la cause déterminante de cette infection? Pareille interprétation est bien peu satisfaisante; et l'on peut se demander si dans les deux cas il ne s'agit pas d'une réaction défensive de la peau vis-à-vis de l'infection microbienne développée superficiellement, mais indépendante de la pénétration du germe dans l'organisme. Cette dernière paraît s'effectuer pour son propre compte et relever

seulement des propriétés inhérentes à chaque microbe.

On sait que le bacille pesteux, proche voisin des pasteurellæ, a cependant comme la bactériidie le pouvoir d'infecter l'organisme par inoculation cutanée. Certains germes paraissent donc susceptibles de traverser la peau assez facilement sans s'atténuer et peut-être même en s'adaptant mieux à l'organisme au cours de ce trajet (charbon); d'autres au contraire (pasteurella), s'ils traversent la peau, ne paraissent acquérir de ce fait aucune propriété pathogène nouvelle, mais il ne semble pas que la réaction locale intervienne dans ces phénomènes.

Une autre constatation d'ailleurs semble confirmer cette manière de voir, c'est que pour chacun des germes étudiés, l'infection générale peut être réalisée par inoculation sur la peau, sans que survienne de lésion locale. On a vu en effet qu'avec une souche de pasteurella virulente mais qui avait perdu sa propriété de léser la peau l'infection générale fut très fréquemment obtenue. De même la grande majorité des infections streptococciques consécutives à l'inoculation cutanée succédèrent à une lésion locale des plus médiocres et nous avons même vu que chez le lapin la diminution des réactions cutanées vis-à-vis du streptocoque indiquait, non pas une immunisation, mais une véritable sensibilisation à l'égard de ce germe. Enfin dans le cas de l'infection charbonneuse, l'artifice d'une épilation préalable qui permet d'obtenir en quelques jours une peau glabre et non réceptive, montre que l'inoculation cutanée pratiquée dans ces conditions, détermine avec une grande fréquence l'infection charbonneuse sans lésions cutanées locales.

Les résultats des inoculations microbiennes sur la peau mettent en évidence, dans bon nombre de cas, que si la lésion cutanée dépend dans une large mesure de la virulence du germe pour l'animal inoculé, elle n'est cependant pas obligatoirement liée à cette virulence. D'autres facteurs interviennent dans le développement de la réaction locale, soit propriété particulière de l'échantillon microbien, soit état relativement résistant de l'animal. L'étude de l'infection streptococcique est particulièrement démonstrative à cet égard.

Il apparaît donc nettement que, dans les divers cas envisagés, l'infection locale et l'infection générale se produisent indépendamment. On ne peut savoir *a priori* la modalité d'infection que déterminera un microbe inoculé sur la peau, ni établir un lien quelconque entre la réaction cutanée et l'infection générale ultérieure.

IMMUNISATION GÉNÉRALE DE L'ANIMAL PAR INFECTION CUTANÉE

Dans un second ordre d'idées, l'ensemble des expériences relatées antérieurement a montré la possibilité de provoquer par la méthode des inoculations cutanées un degré appréciable d'immunité générale.

Avec la pasteurella d'origine humaine chez le cobaye on constate qu'un animal ayant présenté à deux reprises une réaction cutanée forte est capable de résister à l'inoculation intrapéritonéale d'une dose mortelle ; au contraire, un animal dont la peau n'a réagi que médiocrement

n'offre au bout du même temps qu'un degré d'immunité faible ou nul. L'immunité obtenue par cette méthode ne comporte pas la présence d'anticorps décelables dans le sérum. Il sied de remarquer dans ce cas particulier que l'immunisation paraît se produire en fonction de l'intensité des réactions cutanées obtenues ; d'autre part que cette immunisation nécessite l'emploi non d'un vaccin atténué mais de cultures virulentes ; enfin que le degré d'immunité obtenue est faible, de beaucoup inférieur à celui qu'engendre la vaccination par des germes tués. L'absence des anticorps semble dans le cas particulier de peu d'intérêt puisque ceux-ci ne pouvaient être décelés qu'en très petite quantité dans le sérum des animaux immunisés par voie générale.

L'immunisation relative du lapin contre le streptocoque a pu être obtenue une fois sur deux à l'aide des inoculations cutanées ; dans les autres cas l'échec fut complet ; l'immunité, quand elle existait, fut mise en évidence par la résistance plus grande des animaux à une inoculation d'épreuve ; elle s'accompagna dans tous les cas de la présence dans les humeurs d'anticorps décelables par la réaction de fixation ; il y a lieu de retenir encore ici que les animaux susceptibles d'acquérir un certain degré d'immunité étaient ceux qui avaient présenté des réactions cutanées successives particulièrement intenses.

Dans le cas du charbon, on sait que l'inoculation de cultures virulentes sur la peau ne permet pas d'obtenir l'immunisation puisqu'elle détermine constamment une septicémie. Mais M. Besredka en employant de la même

manière les premier et deuxième vaccins charbonneux a pu créer l'immunité facilement au prix de réactions locales vives et il fait remarquer que cette immunité ne s'accompagne pas de la présence d'anticorps dans le sérum. D'autres auteurs, on l'a déjà vu, ont réalisé par cette méthode l'immunité anticharbonneuse chez divers animaux.

Dans une seule expérience personnelle l'immunisation du cobaye put être réalisée avec une culture virulente déposée sur la peau, à la faveur d'une désensibilisation particulière ; il semble que dans ce cas l'immunisation ait été obtenue indépendamment de toute lésion cutanée, mais le caractère exceptionnel de cette expérience lui enlève une partie de sa valeur.

Les inoculations cutanées de paratyphique B peuvent conférer au cobaye une immunité générale certaine que mettent en évidence à la fois la résistance à une inoculation d'épreuve et la présence d'agglutinines dans le sérum. L'immunité obtenue ainsi, au prix de réactions cutanées fortes et répétées, ne diffère pas de celle qu'entraîne la vaccination cutanée ou sous-cutanée par des germes tués.

L'ensemble des faits précédents montre donc que l'immunisation peut être acquise, partiellement tout au moins, par l'inoculation cutanée de germes fort divers, et — c'est le point le plus remarquable — sans que ces germes possèdent nécessairement une affinité élective pour la peau. L'immunité a pu être dans presque tous les cas obtenue à l'aide de germes virulents et il semble même que cette virulence ait été

favorable. Sans présumer du mécanisme commandant l'état réfractaire réalisé, la coexistence entre l'intensité des réactions cutanées et l'apparition de l'immunité est très généralement observée.

L'immunisation ainsi engendrée s'est montrée souvent assez médiocre, inférieure à celle que provoquent les méthodes de vaccination classiques. Enfin d'une manière générale la présence d'anticorps décelables dans le sérum a coïncidé avec l'état réfractaire de l'animal.

ABSENCE D'IMMUNITÉ LOCALE AUTONOME DE LA PEAU A LA SUITE DE L'INFECTION CUTANÉE

Si l'infection de la peau permet assez fréquemment d'obtenir des réactions d'immunité générale chez l'animal il ne semble pas que dans aucun cas ce mode d'inoculation ait été capable d'engendrer une immunité locale, dissociable de l'immunité générale.

En effet, dans l'étude de l'infection pasteurellienne, il a été noté que lorsqu'on pratique en série des inoculations cutanées, les réactions locales paraissent à la troisième ou quatrième application de culture, s'atténuer légèrement ; mais ce fait survenant chez des animaux qui ont acquis en même temps un certain degré de résistance à l'inoculation par les voies les plus diverses, n'implique aucun caractère d'autonomie : il apparaît sous la simple dépendance de l'immunité générale. Il semble même lui être postérieur puisque l'animal possède une immunité déjà assez solide, après deux inocu-

lations ayant déterminé une forte réaction locale, tandis qu'il en faut trois ou quatre pour voir fléchir nettement la réceptivité cutanée. Cette étroite subordination est d'ailleurs bien mise en évidence par l'observation des animaux solidement immunisés à l'aide de germes tués inoculés sous la peau. Chez eux le tégument a perdu toute sensibilité vis-à-vis du germe infectant ; il est totalement réfractaire parce que l'organisme est désormais immunisé. La conclusion se déduit d'elle-même : l'immunité locale de la peau du cobaye vis-à-vis de la pasteurellose étudiée n'a pas d'individualité propre ; elle n'est pas dissociable de l'immunité générale.

Si l'interprétation des faits observés est jusqu'alors fort simple, elle devient dans l'infection streptococcique du lapin beaucoup plus délicate car des facteurs nouveaux viennent troubler les résultats : non seulement ici l'immunité locale fait défaut, mais la réceptivité de la peau semble varier en sens inverse de la réceptivité générale de l'animal. Trois séries d'expériences mettent en évidence ce phénomène :

D'abord les animaux qui à la suite de nombreuses inoculations cutanées acquièrent un degré relatif d'immunité générale conservent leur réceptivité tégumentaire complète.

En second lieu les animaux qui n'acquièrent aucune immunité générale et qui finissent par succomber à l'infection streptococcique présentent dans les derniers jours de leur existence une réceptivité tégumentaire affaiblie.

Enfin les animaux qui ont reçu par voie générale,

soit des germes tués, soit des filtrats de culture, bien loin d'être immunisés dans leurs téguments témoignent au contraire d'une véritable sensibilisation cutanée par des réactions locales d'une particulière violence.

En examinant ces résultats si opposés à ceux de l'infection précédente, en les confrontant avec les réponses fournies par la cuti-réaction au streptocoque chez l'homme on ne peut s'empêcher de penser aux divers aspects de la cuti-réaction à la tuberculine, et — sans pousser trop loin l'analogie — d'invoquer pour les expliquer l'intervention de phénomènes d'anergie et d'allergie.

Chez les lapins, en effet, dont la réceptivité cutanée fléchit au moment où va se déclarer une septicémie streptococcique, il ne saurait être question d'immunité locale mais bien d'une incapacité pour l'organisme d'engendrer une réaction. Chez ceux au contraire que des injections vaccinales ont partiellement immunisés, l'hypersensibilité de la peau, souvent très manifeste, paraît relever d'une allergie cutanée comparable à celle de tuberculeux résistants qui montrent des cuti-réactions bulleuses ou escarrotiques.

Si chez le lapin les tentatives d'immunisation anti-streptococcique donnent des résultats si particuliers c'est que chez cet animal et avec le germe envisagé l'immunité complète ne peut pas être obtenue ; tous les auteurs ont d'ailleurs remarqué le caractère fugace et fragile de l'état réfractaire engendré par les méthodes de vaccination les plus variées. Il est probable que dans cet état complexe interviennent à la fois l'accroissement

des moyens de défense humoraux et la sensibilisation tissulaire.

Quoi qu'il en soit la recherche de l'immunité cutanée vis-à-vis du streptocoque, bien que négative, montre que dans ce cas encore la peau ne jouit d'aucune espèce d'autonomie, qu'elle est soumise dans ses réactions à l'état humoral de l'animal étudié et n'acquiert aucun état réfractaire à la suite d'essais de vaccination par diverses méthodes, parce que l'organisme entier ne se laisse pas davantage immuniser.

Si avec le charbon nous retrouvons une infection capable de conférer à l'animal qui en réchappe une immunité vraie, il n'est pas surprenant que dans ce cas l'état réfractaire de la peau accompagne l'immunité générale de l'organisme. Or l'expérience démontre qu'un animal immunisé contre le charbon est désormais insensible aux inoculations cutanées aussi bien qu'aux inoculations sous la peau. Pas plus avec ce germe qu'avec les autres, la vaccination par voie cutanée ne crée un état réfractaire local de la peau.

Le même parallélisme se retrouve encore en étudiant d'autres microbes. L'infection diphtérique de la peau, incapable de rendre l'animal ultérieurement réfractaire, ne confère pas non plus au tégument d'immunité locale. Le bacille paratyphique B, susceptible d'infecter la peau et de susciter par cette voie des réactions d'immunité générale n'agit pas autrement que s'il était introduit dans l'économie sous forme de vaccin, et la sensibilité de la peau ne décroît que si l'animal acquiert un état réfractaire général solide.

Mais ce sont peut-être les essais d'immunisation du singe contre le bacille de Ducrey qui illustrent le mieux l'étroite dépendance en laquelle se trouve la peau vis-à-vis de l'organisme entier. Toutes les tentatives de vaccination cutanée contre ce germe, pourtant presque exclusivement dermatrope, échouent, alors que la vaccination par voie générale aboutit aisément à rendre la peau complètement réfractaire. Non seulement ici la mise en contact d'un virus avec la peau ne permet pas de réaliser l'immunité locale, mais c'est l'introduction du germe dans l'économie, par voie générale, qui seule est capable de conférer un état réfractaire à la peau douée vis-à-vis du streptobacille d'une affinité cependant exclusive.

Ainsi, dans toutes ces expériences l'immunité de la peau n'est pas apparue comme une propriété acquise et individuelle, mais seulement comme une conséquence de l'immunité générale dont elle n'est pas dissociable. Bien loin de commander l'état réfractaire de l'animal elle paraît être sous sa dépendance.

IMMUNISATION CUTANÉE LOCALE PARCELLAIRE A L'AIDE DES FILTRATS DE CULTURE

Il est cependant une série d'expériences où l'on voit la peau acquérir, très rapidement même, une immunité locale tout à fait distincte de l'immunisation de l'organisme : je fais ici allusion à l'action des filtrats de culture microbienne en application cutanée. On a vu que chez de nombreux lapins, l'application d'un filtrat de vieille culture streptococcique se montre capable d'en-

gêndrer en vingt-quatre heures un état réfractaire local spécifique sur le territoire cutané soumis à ce contact. Il est difficile d'apprécier la solidité et la durée d'un pareil état, mais cette propriété a pour caractère particulier d'être locale et cela dans le sens le plus étroit du mot, parcellaire, incapable de diffuser soit dans l'organisme soit à une étendue plus grande du territoire cutané. M. Besredka qui le premier employa chez le cobaye cette méthode d'immunisation avec le staphylocoque et le streptocoque, en utilisant soit le pansement cutané, soit les injections intra-dermiques « en nappe » a obtenu, à vrai dire, des résultats d'une portée plus grande puisque dans ses expériences l'immunisation locale s'est accompagnée d'un état réfractaire général plus ou moins accusé.

Dans une série d'expériences personnelles qui n'ont pas été relatées, l'action des filtrats de culture de pasteurrellose, de paratyphique B et de charbon a été essayée sur la peau de cobaye, mais les résultats furent ou complètement nuls ou à peine sensibles.

Pour limitée qu'elle soit, actuellement du moins, aux cultures de staphylocoques et de streptocoques, l'action de filtrats de culture en application cutanée n'en a pas moins un gros intérêt doctrinal ; elle montre en effet qu'il est possible dans certains cas de conférer à un fragment de tissu une immunité spécifique en le mettant au contact de produits microbiens ; l'immunité est même dans ces conditions réalisée si rapidement qu'on pourrait la prendre pour une immunité passive. Rappelons en effet que l'immunité passive peut dans les mêmes con-

ditions être obtenue fort simplement : il suffit d'appliquer sur la peau épilée d'un cobaye un pansement au sérum antidiphthérique pour constater que vingt-quatre heures après, peut-être même dans un délai moindre, la peau est insensible à une application de bacilles diphthériques ; l'explication est dans ce cas fort simple ; on met en contact des cellules vivantes des antitoxines toutes prêtes, qui sont rapidement fixées et peuvent jouer leur rôle sans qu'une phase préparatoire soit nécessaire. Mais l'analogie de ces faits avec l'action locale des filtrats de culture est grossière puisqu'à l'opposé du sérum antidiphthérique, les filtrats employés ne permettent pas la culture du germe qui s'y est déjà développé et ne possèdent aucun pouvoir antitoxique. Il semble bien qu'ils agissent comme on l'a vu déjà, en provoquant de la part des cellules mises à leur contact une immunité active. La rapidité extrême de ce processus qui ne nécessite pas la moindre réaction inflammatoire préalable est évidemment surprenante et il serait prématuré de vouloir l'expliquer.

IMMUNISATION GÉNÉRALE PAR APPLICATION CUTANÉE DE CULTURES TUÉES

Avant d'essayer une interprétation du rôle de la peau dans certaines immunités il est nécessaire de joindre aux résultats des expériences personnelles précédemment relatées ceux qu'ont obtenus divers expérimentateurs en poursuivant des recherches du même ordre. Un certain nombre d'ailleurs nous sont déjà connus.

Avec la bactériémie charbonneuse, en employant les premier et deuxième vaccins, M. Besredka et après lui de nombreux expérimentateurs ont réalisé par la voie cutanée chez le cobaye, le lapin et d'autres animaux une immunité particulièrement forte et rapidement constituée. Cette immunité ne s'accompagne pas de la présence d'anticorps décelables dans les humeurs.

Avec le staphylocoque M. Besredka (1), M. Frans de Potter (2) ont déterminé l'immunité du cobaye en inoculant des cultures tuées ou des filtrats de culture soit en pansement sur la peau rasée soit en injections intradermiques et tout particulièrement par la méthode des injections multiples « en nappe ».

L'immunité antistreptococcique chez le cobaye a pu être réalisée grâce aux mêmes méthodes par MM. Besredka et Urbain (3), Brocq-Rousseau, Forgeot et Urbain (4). On sait que M. Frederick P. Gay, employant une culture virulente aurait obtenu vis-à-vis du streptocoque une immunité cutanée locale. C'est d'ailleurs le seul auteur qui avance une affirmation de ce genre, les autres expérimentateurs observant simplement l'avantage de la voie cutanée dans l'immunisation de l'animal.

D'autres germes encore ont servi à des expériences du même ordre :

MM. Arloing et Dufourt (5), essayant par diverses

1. Besredka, *C. R. Biologie*, LXXXVIII, p. 1273, 19 mai 1923.

2. Frans de Potter, *C. R. Biologie*, LXXXIX, p. 828, 13 octobre 1923.

3. Besredka et Urbain, *C. R. Biologie*, LXXXIX, p. 506, 21 juillet 1923.

4. Brocq-Rousseau, Forgeot et Urbain, *C. R. Biologie*, LXXXIX, p. 219, 23 juin 1923.

5. F. Arloing et A. Dufourt, *Vaccination cutanée, transcutanée et*

voies de provoquer l'immunisation du cobaye contre le bacille pyocyannique à l'aide de germes tués, ont déterminé un certain degré d'immunité par des frictions répétées tous les deux jours sur la peau simplement épilée; les résultats furent meilleurs chez les animaux dont la peau avait été scarifiée et chez ceux qui furent vaccinés par voie sous-cutanée.

M. Cernaianu (1) n'a pu réussir à vacciner le lapin contre le choléra des poules en employant une émulsion de germes tués en friction cutanée; il est à noter que la vaccination du même animal par la voie sous-cutanée, n'a donné à l'auteur que des résultats fort précaires.

M. Karl Krauspe (2) a tenté l'immunisation antityphique; comparativement par voie cutanée, intradermique et sous cutanée chez l'homme et chez le cobaye; dosant au bout de six jours le pouvoir agglutinant du sérum, cet auteur l'a trouvé moindre en cas de vaccination intradermique et surtout cutanée, et il conclut à l'infériorité de la voie cutanée.

Par contre, MM. Ciuca et Balteanu (3) ont obtenu avec le vibron cholérique des résultats remarquables. Ayant vacciné deux lots de 11 cobayes chacun, l'un par voie intrapéritonéale, l'autre par voie cutanée en fric-

sous-cutanée contre l'infection pyocyannique du cobaye. Résultats comparatifs (C. R. Biologie, 23 fév. 1924, t. XC, n° 7, p. 477-478).

1. C. Cernaianu, *Essai de vaccination préventive par voie cutanée chez le lapin contre le choléra des poules (C. R. Biol., 31 janv. 1924, t. XC, n° 7, p. 530).*

2. Karl Krauspe, *Zur Teilnahme der Haut in immunisierten Vorgängen (Deutsche mediz. Woch., 12 oct. 1923, p. 1291).*

3. M. Ciuca et I. Balteanu, *Vaccination anticholérique par voie cutanée chez le cobaye (C. R. Biol., t. XC, n° 4, 1924, p. 315-317). Réactions de la peau dans la vaccination cutanée (Ibid., p. 317-318).*

tion en employant une émulsion de germes tués par la chaleur, ces auteurs ont obtenu une immunité aussi solide dans les deux cas. Tous les animaux ont résisté à l'inoculation d'épreuve. Par contre, les propriétés humérales étaient dans les deux séries d'animaux, complètement différentes : le sérum des animaux vaccinés par voie intra-péritonéale présentait un pouvoir agglutinant et un pouvoir bactériolytique intenses et contenait des sensibilisatrices décelables par la réaction de fixation, tandis que dans le sérum des animaux vaccinés par la voie cutanée aucun anticorps ne pouvait être mis en évidence. Les auteurs obtiennent des résultats exactement superposables aux précédents avec des cultures filtrées de vibrions cholériques.

Eprouvant ensuite la réceptivité de la peau par la méthode des inoculations intradermiques, MM. Ciuca et Balteanu ont cru observer que les animaux vaccinés par la voie cutanée avaient une peau moins réceptive que ceux vaccinés par voie intrapéritonéale, et les auteurs concluent à une vaccination tissulaire de la peau.

Enfin, expérimentant l'action des cultures filtrées de vibrions cholériques, MM. Besredka et Golovanoff (1) ont noté eux aussi l'action immunisante de ces filtrats par diverses voies, y compris la voie cutanée.

Ces différents travaux s'accordent dans leur ensemble, on le voit, avec les expériences personnelles citées plus

1. Besredka et M. Golovanoff, *De la vaccination anticholérique. Etude sur l'immunité locale* (C. C. Biologie, 10 nov. 1923, t. LXXXIX, n° 31, p. 933-934).

haut; les dernières recherches concernant le vibrion cholérique ont un intérêt tout particulier. Bien qu'en partie dues à M. Besredka qui, après Sanarelli, a mis en évidence l'entérotropisme du vibrion cholérique, elles montrent clairement que l'immunisation par la voie cutanée peut être obtenue contre un germe doué d'affinités intestinales à peu près exclusives.

On a vu que les recherches personnelles sur le bacille paratyphique B conduisent à des résultats identiques; elles montrent qu'on peut facilement immuniser le cobaye par des applications de germes tués sur la peau, et que l'état réfractaire ainsi réalisé s'accompagne inconstamment de la présence d'agglutinines dans les humeurs.

La plupart des travaux signalent de leur côté l'absence régulière d'anticorps décelables dans le sérum des animaux immunisés par la peau. C'est un point important qu'il y aura lieu de discuter.

NATURE DE L'IMMUNITÉ OBTENUE PAR VOIE CUTANÉE.

LA QUESTION DES ANTICORPS

Se basant sur le mode d'inoculation, sur la rapidité de l'immunisation dans plusieurs cas, sur l'absence d'anticorps dans le sérum et sur la sensibilité élective de la peau invoquée dans certaines circonstances, M. Besredka voit dans toute immunité obtenue par la peau une « cuti-immunité ». Il est utile de préciser la signification de ce terme qui paraît employé dans deux acceptions distinctes. Dans le cas du charbon, en effet, pour lequel est

invoquée une exclusive affinité tissulaire de la peau, cuti-immunité signifie non seulement immunité née dans la peau, mais immunité localisée à la peau seule. Dans les infections staphylococciques, streptococciques, pour lesquelles on ne peut envisager l'affinité exclusive de la peau, cuti-immunité veut dire seulement immunité engendrée par la peau.

Si nous envisageons le mot dans son sens le plus restreint nous voyons aussitôt que même en ce qui concerne l'infection charbonneuse, l'immunité locale est incapable de rendre compte à elle seule de l'immunité générale. Tous les germes étudiés par les différents auteurs précités ou par moi-même sont (à l'exception du bacille de Ducrey) dénués d'affinité cutanée élective ; le fait a été suffisamment discuté. Par conséquent la cuti-immunité ne peut être retenue que dans son acception plus compréhensive d'immunité « cutigène » ayant sa source dans les cellules de la peau et caractérisée par l'absence d'anticorps dans le sérum. On ne saurait trop insister sur ces questions de définition car faute de préciser la valeur des termes on s'exposerait à des confusions fâcheuses. Il est de toute évidence en effet que *l'immunité locale d'un tissu donné tel que la peau, ne peut expliquer l'état réfractaire de l'animal que si l'affinité quasi exclusive pour ce tissu du germe envisagé a été au préalable démontrée*. Pareille propriété n'appartenant pas à la plupart des germes jusqu'à présent étudiés, il est impossible de ramener l'immunité générale acquise contre eux à la seule immunité de la peau.

La discussion ne saurait pourtant s'arrêter là puisqu'on peut concevoir la « cuti-immunité » comme une immunité tissulaire, engendrée par les cellules de la peau et propagée à toutes les cellules sensibles de l'organisme, sans l'intervention d'anticorps humoraux. Cette absence d'anticorps est bien loin d'être constante, on l'a vu, à la suite d'inoculations cutanées, mais quand elle existe suffit-elle pour obliger à admettre une forme d'immunité nouvelle ?

Bien que jusqu'à ces derniers temps l'immunité ait été expliquée exclusivement par la mise en jeu d'un processus phagocytaire ou par l'action d'anticorps humoraux, il n'a cependant pas échappé aux biologistes que la concentration des anticorps décelés dans les humeurs ne pouvait mesurer le degré d'une immunité acquise. Particulièrement en ce qui concerne l'immunité jennérienne il a été observé que les anticorps, abondants dans les humeurs à l'époque où l'état réfractaire se constitue, diminuent ensuite progressivement et finissent par disparaître alors même que la résistance à l'infection de l'animal ne fléchit pas.

Pour rendre compte de ce phénomène on a invoqué généralement la faculté que conservent les animaux immunisés de produire rapidement des anticorps lorsqu'on les met de nouveau en présence de l'antigène spécifique. M. Bordet (1) signale le fait dans son *Traité de*

1. J. Bordet, *De l'immunité dans les maladies infectieuses*. Paris, Masson, 1920.

l'Immunité, MM. M. Nicolle et Césari (1), en 1922, admettent également chez les animaux immunisés dont le sérum ne renferme pas d'anticorps décelables la persistance de la fonction antipoiétique spécifique : une nouvelle introduction d'antigène déclancherait la concentration sur lui de la minime quantité d'anticorps existants mais non décelables par nos techniques actuelles. Cette rupture d'équilibre déterminerait rapidement la production de la dose d'anticorps neufs nécessaires.

Etendant même cette notion à l'immunité naturelle qui, on le sait, ne comporte pas la présence d'anticorps dans les humeurs, MM. Nicolle et Césari envisagent là encore l'existence d'une fonction antipoiétique particulière déclanchée par l'introduction de l'antigène, à la faveur d'une quantité minime et non décelable d'anticorps préexistants. On voit donc que l'absence d'anticorps ne saurait être un obstacle à la conception de l'immunité générale, pas même semble-t-il au caractère humoral de cette immunité.

Mais il n'est pas douteux que le manque de toute modification humorale évidente chez un animal vacciné par voie locale incite à penser que le facteur tissulaire, le dernier invoqué, peut avoir dans la genèse de l'immunité une importance prépondérante. Même dans cette conception il demeure que l'immunité obtenue est une immunité générale ; que le pouvoir empêchant appartenne aux humeurs circulantes ou soit l'apanage des

1. M. Nicolle et E. Césari, *Colloïdes, Catalyse, Antigènes, Anticorps* (*Annales de l'Institut Pasteur*, XXXVI, 1922, n° 6, p. 463).

cellules de l'organisme, il n'en résulte pas qu'une immunité dite tissulaire (parce que sans anticorps) doive son caractère particulier plus à son origine dans tel ou tel tissu qu'au mode particulier d'introduction de l'antigène.

Nous avons vu qu'on pouvait immuniser par la peau un animal contre le paratyphique B, le choléra, la dysentérie (Balteanu et Tudoran) : cette immunité se produit en l'absence d'anticorps et cependant ce serait un nonsens de la concevoir comme une immunité tissulaire *de la peau* puisque ces germes ont un tropisme intestinal. Inversement M. Combiesco signale que l'immunité anti-streptococcique et antistaphylococcique est réalisable par la voie intestinale après sensibilisation par la bile. Cette immunité peut également se passer d'anticorps et cependant il n'est pas possible de la concevoir comme une immunité tissulaire *de l'intestin*.

Mais, fait plus important, M. Combiesco (1) a montré qu'avec un même germe, un même mode d'inoculation par voie générale pouvait à volonté produire une immunité avec ou sans anticorps. Ce bactériologiste, inoculant des lapins par voie péritonéale ou endoveineuse avec des bacilles vivants, a obtenu une immunité s'accompagnant d'un très fort pouvoir agglutinant des humeurs. Or, inoculant à d'autres lapins par la même voie une quantité égale de germes qui avaient été pendant quatre à cinq heures mis en présence du sang total oxalaté de lapin, M. Combiesco a observé une immunité aussi

1. Combiesco, C. R. Biologie, 22 mars 1924, XC, n° 11, p. 752.

solide sans que pourtant des agglutinines fussent décelables dans le sérum. L'inoculation sous-cutanée a fourni à l'auteur des résultats comparables. Il en résulte que l'absence d'anticorps au cours de l'immunisation par la voie cutanée peut être expliquée par une modification des germes au contact des humeurs avant de pénétrer dans l'organisme, et qu'elle n'implique pas une nature particulière de l'immunité obtenue.

L'intérêt des vaccinations par voie cutanée — comme d'une façon plus générale par voie tissulaire — paraît donc être surtout de dissocier dans l'immunité acquise ce qui appartient aux anticorps décelables et ce qui ne leur revient pas. Mais en tous cas la méthode ne permet aucunement d'affirmer qu'un même animal soit capable de s'immuniser vis-à-vis d'un même germe par la mise en jeu de deux processus distincts selon que l'antigène est introduit dans l'organisme ou mis au contact de la peau ; l'immunité obtenue par cette dernière voie est moins aisément décelable *in vitro* par les techniques usuelles mais elle ne possède pourtant aucun caractère spécifique.

GENÈSE DE L'IMMUNITÉ OBTENUE PAR LA VOIE CUTANÉE
DU RÔLE PROBABLE DE LA PEAU
DANS L'INFECTION ET DANS L'IMMUNISATION

Bien que l'immunité réalisée par la voie cutanée ne se présente pas sous une modalité spéciale, on doit se demander quel en est le mécanisme probable, et en par-

ticulier qu'elle est sa relation avec les réactions locales observées.

Les premières recherches sur la pasteurellose paraissaient entraîner des conclusions tout à fait formelles, l'apparition de l'immunité semblant au cours de ces expériences étroitement liée à l'existence de réactions cutanées fortes et répétées. De même avec le streptocoque, l'immunité bien qu'inconstante apparaît seulement chez les animaux qui offrent à plusieurs reprises des réactions locales intenses. En ce qui concerne la vaccination anticharbonneuse, M. Besredka signale que l'inoculation cutanée du premier puis du second vaccin, détermine constamment de vives réactions inflammatoires. On peut donc dire que, dans presque tous les cas, l'apparition d'un état réfractaire plus ou moins accusé accompagne des phénomènes locaux, répétés et intenses. Il vient alors à l'esprit l'hypothèse qu'un conflit entre l'antigène microbien et les éléments cellulaires de la peau serait nécessaire pour engendrer l'immunité et qu'il agirait en produisant certains anticorps capables de se fixer aux divers tissus de l'organisme, mais non toujours décelables *in vitro* dans les humeurs. Pareille conception est cependant peu satisfaisante, et pour plusieurs raisons :

Tout d'abord il n'est guère possible d'établir une relation de cause à effet entre l'intensité des réactions locales et le degré de l'immunité générale. Il semble bien en effet que l'inoculation cutanée d'un germe s'accompagne constamment de la pénétration dans l'organisme d'un certain nombre d'entre eux ; l'infection

charbonneuse par voie cutanée en est un exemple. Dès lors il est permis de se demander si l'immunité naît du conflit entre les cellules de la peau et les microbes qui végètent à sa surface ou de la réaction de l'organisme contre les germes qui parviennent à y pénétrer. Si cette seconde manière de voir était exacte les relations entre les phénomènes locaux et l'immunité pourraient être interprétés différemment. L'étude du streptocoque a montré que la réaction cutanée pouvait être considérée comme un test de résistance de l'animal puisqu'elle décroît régulièrement chez les animaux qui ne se laissent pas vacciner et s'exalte au contraire, chez ceux qui ont acquis une immunité partielle. Semblable propriété est, selon toute vraisemblance, susceptible d'être étendue à d'autres infections, et dès lors le rapport de causalité qui semble établi pourrait être inversé : au lieu de considérer que l'animal s'immunise parce qu'il fait des réactions cutanées fortes, on admettrait que l'animal dont les réactions cutanées sont fortes est celui qui est doué de la plus grande résistance, qui, partant a le plus de chances de se laisser immuniser.

Ce n'est là bien entendu qu'une interprétation fort-difficile à vérifier, mais l'hypothèse d'un conflit local envisagé comme source de l'immunité trouve d'autres obstacles plus importants. En effet, divers auteurs ont pu obtenir par la voie cutanée des vaccinations contre des germes variés, en employant soit des cultures tuées, soit des filtrats de cultures ; l'existence de réactions locales particulières n'est pas mentionnée dans ces expériences. Les expériences personnelles concernant le

paratyphique B n'ont d'ailleurs pas permis d'observer la moindre réaction locale au cours de la vaccination cutanée par des germes tués. De semblables immunisations sont donc indépendantes de tout phénomène inflammatoire au point d'inoculation ; et d'ailleurs quand les expériences concernent des germes à affinités intestinales tels que le bacille de Shiga, le bacille paratyphique B, ou le vibron cholérique, on a peine à croire qu'un processus d'immunité puisse prendre naissance dans quelques cellules de la peau. On est donc amené à concevoir que l'immunité réalisée par voie cutanée doit être engendrée par la pénétration dans l'organisme, soit d'éléments microbiens vivants ou tués, soit de substances élaborées dans les cultures.

Une difficulté surgit évidemment quand il s'agit d'expliquer l'action optima de certains vaccins (charbon) ou de certains filtrats (streptocoques, staphylocoques), inoculés par la voie cutanée ; il est possible toutefois de faire intervenir dans le premier cas l'adaptation microbienne obtenue à la faveur de la traversée cutanée, qui préserve le germe contre la phagocytose brutale ; dans le second cas de supposer des modifications d'ordre chimique ou physico-chimiques subies par certains produits microbiens au contact des tissus et qui leur permettent d'engendrer dans l'économie les réactions de défense nécessaires.

Ainsi nous trouvons-nous conduits par ces interprétations à une conception en quelque sorte mécanique du rôle de la peau, tant dans l'infection, que dans l'immunité.

A l'état normal, la peau revêtue d'une couche cornée protectrice est à peu près inattaquable, non seulement du fait de son imperméabilité, mais aussi parce qu'elle paraît posséder une insensibilité remarquable, ainsi qu'en témoignent les inoculations intradermiques de streptocoques dans la peau non épilée.

C'est seulement à la faveur d'une épilation récente que la peau devient, pour un temps d'ailleurs fort court, à la fois plus perméable et sensibilisée ; que grâce à ces propriétés nouvelles une inoculation peut déterminer une réaction locale et une infection générale. Encore convient-il de remarquer que l'infection générale est très inconstante ; elle n'a pas lieu dans bon nombre de cas et même avec des germes d'une grande virulence, soit que ceux-ci ne puissent pénétrer, soit qu'ils pénètrent en très petit nombre, et atténués par ce passage (pasteurella). D'autres fois au contraire (charbon), la résistance de la peau fait le jeu de l'infection, car tout en ne se prêtant pas d'abord à la pullulation microbienne, elle permet la pénétration de quelques germes : ceux-ci ont le temps, pendant la durée de leur passage, d'acquérir des propriétés nouvelles qui leur permettent de vivre dans le milieu humoral où la phagocytose les aurait, à défaut de cette adaptation, détruits. C'est à semblable conclusion d'ailleurs que l'étude de l'infection charbonneuse a conduit M. Combesco. Ainsi l'hypothèse d'une insensibilité particulière de la peau, d'une résistance d'ordre mécanique, peut rendre compte des effets de différentes inoculations microbiennes, même quand les résultats sont en apparence contradictoires. C'est la faculté d'adaptation du germe au

milieu humoral et non pas la sensibilité de la peau qui paraît commander l'infection générale consécutive à une inoculation cutanée.

Pour ce qui est de l'immunisation, c'est encore la résistance de la peau, l'obstacle qu'elle apporte à la pénétration des germes et des corps étrangers qui rend le mieux compte des particularités de l'immunisation obtenue par le tégument. Des germes qui risqueraient d'être détruits dans l'organisme mettent à profit la lente pénétration que leur impose la peau pour acquérir des propriétés nouvelles et devenir capables de susciter des réactions d'immunité. Il semble même que l'absence d'anticorps décelables, notée dans beaucoup d'états réfractaires obtenus par voie cutanée, résulte de modifications subies par l'antigène microbien au contact des tissus. Le mécanisme est sans doute plus obscur quand le produit vaccinant est une culture filtrée mais il est probable qu'il relève d'une interprétation de même ordre.

C'est ainsi qu'aux notions de sensibilité particulière de la peau et de rôle électif de celle-ci dans la genèse de certaines infections et de certaines immunités paraît devoir être substituée la notion de résistance banale, mécanique et non spécifique.

APERÇU GÉNÉRAL SUR L'IMMUNITÉ LOCALE

L'exposé précédent tend à refuser à la peau tout rôle spécifique dans l'élaboration de l'immunité vis-à-vis des germes étudiés, à ne reconnaître à l'immunité tégu-

mentaire aucune existence autonome, ni aucune valeur particulière dans la genèse de l'état réfractaire général. Peut-être l'étude de différentes autres infections microbiennes conduirait-elle aux mêmes conclusions. Le fait reste à démontrer. En tous cas il est loin de ma pensée de combattre la notion de l'immunité locale appliquée à certains virus doués d'un tropisme électif, ni la notion de l'immunité tissulaire considérée comme un facteur important de l'immunité générale. Ces deux notions, bien que liées, méritent en effet d'être distinguées.

Le type essentiel de l'immunité locale a été fourni par l'immunité cornéenne. Les auteurs qui se sont attachés à l'étude de l'herpès, de la vaccine et de diverses ectodermoses (Doerr et Schnabel, Blanc et Caminopetros, Levaditi, Harvier et Nicolau, etc...), ont vu que la kératite expérimentale déterminée par ces virus, entraînait une immunité spécifique de la cornée infectée, et que cette immunité ne s'étendait, pendant un certain temps tout au moins, ni à l'autre cornée ni au revêtement tégumentaire. Dans ce cas particulier l'existence d'une immunité locale n'est pas le résultat d'une interprétation, elle est un fait, d'autant plus remarquable d'ailleurs qu'il est le seul de ce genre jusqu'à présent rigoureusement démontré. Inversement il est démontré aussi que l'immunité vaccinale obtenue chez le lapin par voie cutanée ou intra-veineuse n'intéresse pas la cornée (Levaditi et Nicolau). La cornée a donc, dans les phénomènes d'immunité, une indépendance tout à fait spéciale, et qui s'explique d'ailleurs, jusqu'à un certain point, par son indépen-

dance très particulière vis-à-vis du système vasculaire.

Dès qu'on quitte le domaine de l'infection cornéenne, les notions d'immunité locale et d'immunité tissulaire deviennent des questions d'interprétation, aucun des tissus envisagés n'étant doué d'une autonomie comparable à celle de la cornée.

MM. Levaditi et Nicolau, dans leurs études sur les ectodermoses neurotropes ont vu que divers virus filtrants sont doués de la propriété de se fixer électivement sur certains tissus, quelle que soit d'ailleurs la voie d'introduction choisie. Ils ont établi également que malgré l'immunité, ordinairement très solide, obtenue contre ces virus, le pouvoir virulicide des humeurs était inconstant et, quand il existe, inférieur au pouvoir virulicide des tissus réceptifs. Partant de ces faits expérimentaux les auteurs sont arrivés à la conception suivante du mécanisme de l'immunité vis-à-vis des ectodermoses :

« Le virus inoculé se généralise (par voie sanguine ou nerveuse) pour se fixer sur les organes de choix où il provoque souvent des lésions. Quand ces lésions guérissent, le tissu est immunisé. Ainsi l'immunité générale se décompose en autant d'immunités locales qu'il y a de tissus sensibles et paraît indépendante de l'action virulicide des humeurs ».

Cette conception, très séduisante, repose sur des faits expérimentaux bien établis. Elle a le mérite de montrer que ni la phagocytose ni le pouvoir protecteur des humeurs ne suffisent à expliquer l'immunité et, qu'il y a

lieu pour en rendre compte, de faire intervenir le facteur tissulaire, l'état réfractaire acquis de la cellule fixe de l'organisme. Mais il est important de remarquer que l'immunité tissulaire ainsi conçue dépasse le cadre de l'immunité locale, envisagée du moins dans un sens strict. Elle fait intervenir en effet la généralisation du virus dans l'organisme et laisse la liberté de supposer qu'à un moment donné de l'infection, le virus est venu en contact de la *totalité* des tissus réceptifs. On peut donc admettre que ce contact, même sans provoquer de lésions, a suffi à déclancher dans tous ces tissus les modifications biologiques nécessaires pour les rendre désormais insensibles. Rien n'oblige par contre, à croire que l'immunité ait pris naissance en un point précis des tissus pour diffuser ensuite, ni que l'état réfractaire de l'organisme entier soit conditionné par un état réfractaire localement acquis.

Dans un autre ordre de recherches, M. Besredka s'est attaché à mettre en évidence dans différentes infections, le rôle de l'immunité locale et l'intérêt de la vaccination par des voies variables adaptées au tropisme des microbes étudiés. Laissant de côté ici les résultats pratiques auxquels cette méthode peut conduire, nous n'envisagerons que les bases sur lesquelles s'appuie l'auteur pour édifier sa doctrine de l'immunité. M. Besredka (1) a tout particulièrement étudié les germes du groupe typhoparatyphique et du groupe dysentérique : il a montré

1. Besredka, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1919, XXXIII, p. 301 et p. 557 et *Bulletin de l'Institut Pasteur*, 1922, XX, p. 473 et p. 513.

l'affinité de ces microbes pour l'intestin, la possibilité d'infecter par eux les animaux de laboratoire, en employant la voie digestive, avec ou sans l'artifice du décapage intestinal par la bile; enfin la possibilité d'immuniser ces animaux par la même voie et dans les mêmes conditions. L'immunité ainsi obtenue est telle que l'animal résiste à l'introduction du virus par toutes les voies, mais elle ne s'accompagne pas de la présence d'anticorps dans les humeurs, d'où la déduction qu'il s'agit d'une immunité locale de l'intestin, d'une « entéro-immunité ».

S'agit-il là d'une immunité locale dans le sens rigoureux, circonscrite aux cellules intestinales mises en contact avec le virus? Il ne le semble pas. La vésicule biliaire, en effet, si sensible comme on l'a vu plus haut au paratyphique B, doit se trouver immunisée comme le reste du revêtement entodermique pour que l'animal puisse être réfractaire; il faut donc que l'immunité acquise par les cellules intestinales soumises au contact du virus se propage à la totalité du tissu sensible, ou bien que le vaccin inoculé pénètre dans l'organisme et revienne par voie générale vers les cellules réceptives qu'il n'a pu impressionner directement.

D'autre part, il est singulier de voir que vis-à-vis de l'infection cholérique, elle aussi purement entérale, MM. Ciuca et Balteanu et M. Besredka lui-même aient obtenu l'immunité en utilisant la voie cutanée (cultures tuées ou filtrats de cultures); pareil résultat découle des expériences personnelles faites avec le paratyphique B; ces faits démontrent que l'« entéro-immu-

nité » peut être acquise par voie cutanée, ce qui nécessite obligatoirement la pénétration dans l'organisme de l'antigène microbien qui doit aller prendre contact avec les cellules intestinales. Dès lors, on ne voit plus de différences possibles entre les formes d'immunité obtenues, quelle que soit la voie choisie pour introduire l'antigène, et l'immunité par voie intestinale apparaît en tous points semblable à celle que peut entraîner un autre mode de vaccination : « il n'y a qu'une seule immunité, quelle que soit la voie d'introduction du virus, l'immunité intestinale, qui nécessite le contact du virus avec l'intestin », a d'ailleurs écrit lui-même M. Besredka en 1919.

Ces recherches amènent donc à concevoir l'immunité contre les bacilles dysentérique, typhique et paratyphique comme étant avant tout de nature tissulaire et localisée à l'ensemble des cellules réceptives, mais tout à fait indépendante de la voie d'introduction du vaccin.

On conviendra qu'ainsi comprise, l'immunité locale est détournée de son sens originel, et que cette expression risque de devenir une source de confusions. Le seul critérium possible en effet de l'immunité locale proprement dite est l'insensibilité acquise d'un tissu coïncidant avec la réceptivité entière des autres tissus sensibles. C'est une immunité semblable qu'invoque M. Calmette (1) pour expliquer l'état réfractaire de l'intestin vis-à-vis de germes qui y végètent normalement, alors qu'ils deviennent pathogènes lorsqu'ils sont intro-

1. Calmette, *Annales de l'Institut Pasteur*, XXXVII, 1923, p. 900.

duits par une autre voie ; et c'est la seule que beaucoup d'auteurs paraissent avoir obtenue par voie entérale contre les bacilles typhique ou paratyphiques.

Dans une autre série d'expériences, M. Besredka (1) a montré que la résistance des poumons vis-à-vis du bacille diphtérique et du bacille paratyphique B pouvait être augmentée par l'inoculation intratrachéale de germes tués, ce qui l'amène à conclure à l'existence d'une immunité locale acquise des poumons. Pareille conclusion est fort légitime, mais il importe de remarquer que ces expériences n'ont pas du tout la même signification que les précédentes. Il s'agit là en effet d'un tissu qui n'est doué d'aucune sensibilité élective vis-à-vis des germes inoculés et l'immunité locale acquise de ce tissu ne saurait prétendre expliquer l'état réfractaire de tout l'organisme.

Ainsi les divers travaux auxquels il a été fait allusion et qui sont la base de la théorie étudiée mettent en évidence les deux faits suivants :

1° L'immunité locale existe et son type le plus pur est fourni par l'immunité cornéenne.

2° Dans l'immunité générale le facteur tissulaire a une importance prépondérante sinon exclusive.

Par contre ces travaux ne démontrent pas que l'immunisation locale d'un tissu donné conférée par une vaccination locale, ait le pouvoir de s'étendre à tous les tissus sensibles et puisse expliquer à elle seule l'état réfractaire de l'organisme entier, sans faire intervenir,

1. Besredka, *Annales de l'Institut Pasteur*, XXXIV, juin 1920, n° 6.

soit la dissémination du virus, soit la production d'anticorps (détectables ou non). C'est ce point précis qui demeure critiquable.

LA NOTION D'IMMUNITÉ LOCALE APPLIQUÉE A LA PEAU

Quand on transporte dans le domaine de la peau la théorie de l'immunité locale, les difficultés d'interprétation deviennent plus grandes encore.

On peut en effet concevoir la possibilité d'immuniser localement l'épithélium pulmonaire ou la muqueuse intestinale ; la répartition du vaccin inoculé par la trachée ou par les voies digestives peut se faire sur une très grande surface. Il est aisé de comprendre qu'une semblable immunité locale puisse protéger l'organisme dans une large mesure en rendant inoffensive l'inoculation d'un virus faite par *la même voie* ; mais comment prétendre mettre en contact de la totalité de l'épiderme sensibilisé, une culture ou un antigène microbien quelconque ? Il est seulement possible d'agir sur une faible partie du territoire cutané. Dans ces conditions on arrive bien à réaliser une immunité locale parcellaire (l'action de certains filtrats de culture le démontre) mais peut-on admettre l'extension à tout le tégument de cet état réfractaire circonscrit ? C'est ce qu'il convient de discuter.

Si en effet la mise en contact d'un fragment de la peau avec un antigène microbien déclenche l'immunisation de tout le revêtement cutané sans nulle participation de l'organisme, on peut se demander par quel

mécanisme se propage l'état réfractaire d'abord local. S'agit-il d'une extension en surface, de proche en proche, « en tache d'huile » ? En aucune manière. En effet dans les expériences personnelles relatées plus haut il n'a été observé en aucun cas qu'une région cutanée voisine d'une plage inoculée antérieurement fût différemment réceptive d'une région lointaine. D'autre part, au cours de l'infection par la vaccine jennérienne qui elle, est douée d'une affinité élective pour l'épiderme, MM. Levaditi et Nicolau ont rejeté ce mode de propagation et souligné le caractère « explosif » de l'immunité apparue.

Doit-on alors comme ont fait ces deux auteurs admettre une propriété physique soudainement étendue à tout le tégument par communications intercellulaires ? Il est encore permis de douter d'un semblable mécanisme.

Deux expériences personnelles m'ont permis, en effet, de constater que, chez un lapin dont la peau d'une cuisse est largement isolée par une section circulaire, l'inoculation vaccinale en un point quelconque du tégument détermine dans les délais habituels l'immunité des territoires de peau artificiellement isolés.

On en vient donc à considérer que l'immunité de l'ensemble du tégument, quel que soit le lieu de l'inoculation vaccinnante, ne peut être réalisée que par la voie générale, soit par des anticorps (décelables ou non), soit par des microbes ou des produits microbiens qui, répandus dans tout l'organisme, vont en impressionner toutes les cellules sensibles.

Ainsi l'hypothèse de l'immunité strictement locale

d'un tissu, indépendamment de toute participation de l'organisme, et qui était présentée précédemment comme critiquable, apparaît, dans le cas particulier de la peau, bien difficile à concevoir. Même quand l'immunité locale de la peau suffirait à expliquer l'immunité générale, sans participation apparente des humeurs, on n'en peut guère comprendre la genèse qu'en admettant l'intervention de l'organisme pour disséminer dans ce tissu, soit des anticorps non décelables, soit le virus doué pour lui d'une affinité élective.

Dès lors quand un animal est immunisé contre un virus, quelle qu'en soit la voie d'introduction, on est autorisé, en l'absence d'anticorps décelables, à qualifier son immunité de tissulaire : c'est une affaire d'interprétation. Mais il n'est pas possible de dire que l'état réfractaire se constitue sans que l'organisme y ait participé. Pour que le sujet soit immunisé en l'absence du pouvoir virulicide des humeurs, il est nécessaire, en effet, que la totalité de ses cellules réceptives soient imprégnées d'anticorps ou impressionnées par le virus. Ce serait modifier la valeur des mots que donner l'épithète de locale à une telle immunité.

Il apparaît ainsi que le mot « immunité locale » n'a de sens que s'il est pris dans son acception la plus étroite telle que l'immunité cornéenne. Si l'on veut par cette appellation expliquer l'état réfractaire d'un animal, on lui donne une extension telle qu'elle perd sa raison d'être et prend la signification d'immunité générale d'origine tissulaire.

L'ensemble des idées exposées dans ce travail peut se ramener à deux critiques de l'immunité locale. La première vise cette conception dans son sens rigoureux d'immunité localisée à un seul tissu. Elle lui reproche de prétendre expliquer l'état réfractaire d'un organisme entier vis-à-vis de germes tels que la bactériémie charbonneuse, qui ne sont pas doués d'affinité exclusive pour le tissu envisagé ; alors que l'immunité locale ainsi comprise doit obligatoirement reposer sur une affinité microbienne spécifique rigoureusement démontrée. La deuxième critique concerne l'immunité locale comprise dans le sens beaucoup plus large d'immunité tissulaire à point de départ local. Elle combat la notion de l'immunité naissant dans un fragment de tissu et s'étendant de là aux cellules sensibles sans participation de l'ensemble de l'organisme. Elle tend à substituer à cette conception celle d'immunité générale de nature tissulaire prenant son origine dans les modifications acquises simultanément de tous les tissus sensibles.

Il n'en demeure pas moins que les méthodes de vaccinations locales, auxquelles est attaché le nom de M. Besredka, conservent leur importance pratique et leur intérêt théorique. Dans le domaine pratique immédiat en effet, les recherches de ce savant ont montré que dans de nombreux cas, on pouvait remplacer les vaccinations préventives sous-cutanées par d'autres procédés moins nocifs et tout aussi efficaces : c'est le cas surtout des vaccinations antityphiques par voie buccale. Dans la vaccination des animaux contre le charbon, la voie cutanée vient de se révéler préférable à toute

autre et permet de réaliser facilement des immunisations jusqu'alors laborieuses. Dans le domaine théorique, les vaccinations cutanées ont le mérite de dissocier souvent dans l'immunité obtenue, la part qui revient aux anticorps décelables *in vitro* et celle qui relève d'autres facteurs. Elles montrent par là que le rôle dévolu aux tissus eux-mêmes dans la défense de l'organisme, doit bénéficier d'une extension de plus en plus grande, et que dans les essais d'immunisation, ce n'est pas la recherche d'une production abondante d'anticorps qui doit guider l'expérimentateur. Il est permis d'espérer qu'en variant les voies d'introduction de divers vaccins, on pourra obtenir dans beaucoup de cas des résultats plus parfaits. On ne peut toutefois connaître *a priori* le meilleur mode de vaccination contre une infection donnée, car il est vraisemblable que le succès d'une méthode est lié bien plus au mode de pénétration et de dissémination de l'antigène microbien dans l'économie, qu'à la localisation initiale de l'immunité réalisée.



CONCLUSIONS

L'immunité que permettent de réaliser certaines vaccinations par voie cutanée a été comprise dans deux sens distincts. Tantôt elle est considérée comme une immunité locale circonscrite au revêtement tégumentaire ; pareille interprétation ne peut rendre compte de l'insensibilité acquise de l'organisme que si le virus étudié est doué pour la peau d'une affinité exclusive. Tantôt, dans les cas où cette affinité ne peut être invoquée, l'immunité obtenue par voie cutanée est interprétée, comme l'extension à l'organisme entier, d'un état réfractaire des cellules mises en contact avec les éléments microbiens. C'est à la discussion de ces deux manières de voir appliquées à un certain nombre d'infections qu'a été consacré le présent travail dont voici les conclusions :

I. — La peau, chez les animaux de laboratoire, est susceptible d'être rendue réceptive vis-à-vis de nombreux germes microbiens et de répondre à l'infection par une réaction inflammatoire locale.

La condition nécessaire et suffisante pour déterminer cette réceptivité est l'épilation pratiquée extempo-

ranément, qui semble agir en favorisant la pénétration des germes et en sensibilisant la peau.

Quelques jours après l'épilation la peau a perdu partiellement ou complètement la faculté de répondre à l'infection par une réaction locale, quelles que soient les érosions mécaniques pratiquées à sa surface. Il en résulte que cet état réfractaire d'ordre banal entrave la recherche de toute immunité locale spécifique sur un territoire cutané préalablement infecté.

II. — En se conformant aux conditions précédentes il est possible d'infecter la peau avec de nombreux germes sans que cette infection implique de la part de ces germes une affinité cutanée élective. Cette infection a pu être produite en effet chez le lapin ou le cobaye par le méningocoque, le streptocoque, une pasteurella, la bactériodie charbonneuse, le bacille diphtérique, le bacille paratyphique B, etc.

L'intensité de la réaction locale obtenue avec un même germe est, dans une certaine mesure mais non nécessairement, liée à la virulence de la souche employée pour l'animal étudié. Elle est en rapport pour certaines infections (streptocoques) avec le degré de résistance de l'organisme.

L'envahissement de l'économie se fait indépendamment de la réaction locale et varie essentiellement suivant le microbe inoculé. Rare dans l'infection pasteurellienne, malgré la tendance habituelle des pasteurellae à créer une septicémie ; il est constant dans l'infection charbonneuse ; variable dans d'autres infections où il

paraît relever d'un état anergique de l'animal (streptocoque).

Dans le déterminisme de ces généralisations infectieuses la peau semble être dépourvue de tout rôle spécifique, et intervenir d'une façon mécanique, soit pour entraver soit pour favoriser la pullulation des germes, selon leurs facultés d'adaptation.

III. — La notion d'une affinité cutanée étroitement spécifique a été étendue à certains germes qui ne la possèdent pas. Cette affinité a été en particulier invoquée pour la bactériémie charbonneuse qui ne serait capable de déterminer une septicémie qu'à la faveur d'une infection locale cutanée préalable.

Or les expériences précédentes démontrent que chez le cobaye l'infection charbonneuse peut être régulièrement obtenue par inoculation intracardiaque ou intraveineuse de sang charbonneux ou de culture virulente, en l'absence de toute lésion cutanée, si minime soit-elle. Il n'en demeure pas moins que l'inoculation du charbon sur la peau est d'une particulière sévérité, mais ce fait semble dû à un phénomène d'adaptation microbienne et non à une propriété tissulaire spécifique.

IV. — De même que l'infection cutanée peut être réalisée par de nombreux virus, de même l'immunisation de l'organisme peut être obtenue vis-à-vis de germes divers par la voie cutanée, sans que l'affinité élective de ces germes pour la peau soit nécessaire.

Suivant les cas l'état réfractaire, du moins partiel, nécessite pour apparaître l'emploi de cultures virulentes, de cultures atténuées, ou seulement de germes tués ou de cultures filtrées.

Lorsque l'application cutanée de germes microbiens vivants entraîne la vaccination de l'organisme, c'est à la suite de réactions locales fortes, mais on ne peut toutefois affirmer une relation de cause à effet entre l'intensité de la réaction locale et le degré de l'immunité obtenue. Par contre lorsque des cultures tuées ou filtrées ont, par leur application sur la peau, un pouvoir vaccinant, l'état réfractaire se constitue sans phénomènes locaux appréciables.

La solidité de l'immunité obtenue par la peau varie considérablement selon le germe étudié : égale ou supérieure dans certains cas (charbon) à celle que peut réaliser toute autre méthode de vaccination, elle se montre vis-à-vis de plusieurs infections notablement moindre. L'absence d'anticorps décelables *in vitro*, dans les humeurs est un de ses caractères particuliers, mais ce n'est pas là, tant s'en faut, une loi constante.

Enfin l'état réfractaire de la peau s'avère dans tous les cas étudiés sous l'étroite dépendance de l'état réfractaire général. Lorsque l'immunité complète de l'organisme peut être obtenue vis-à-vis d'un germe (pasteurella, charbon) elle entraîne *ipso facto* l'insensibilité du tégument, quelle que soit d'ailleurs la méthode de vaccination employée. Au contraire si la vaccination par différentes voies n'engendre qu'une immunité incomplète, la peau conserve sa réceptivité ; il arrive même (streptocoque)

que les essais de vaccination entraînent une véritable sensibilisation cutanée paraissant relever de phénomènes d'allergie.

Par contre les vaccinations cutanées ne permettent en aucun cas de déterminer un état réfractaire uniquement localisé au tégument.

V. — Il résulte de ces faits que la notion d'immunité locale de la peau a bénéficié d'une extension exagérée. Une pareille immunité n'est ni réalisable à l'état isolé vis-à-vis des germes étudiés, ni capable de rendre compte de l'état réfractaire de l'organisme à l'égard de ces germes qui ne sont pas doués d'une affinité exclusive pour la peau.

IV. — Il reste cependant que les vaccinations par voie cutanée ont, dans certains cas, l'intérêt de montrer ce qui, dans la genèse de l'immunité, est indépendant des propriétés humorales connues, et attribuable aux cellules fixes des tissus.

Les particularités de l'état réfractaire obtenu par cette méthode n'autorisent pas à envisager la mise en jeu d'un processus nouveau ; elles paraissent dépendre du mode de pénétration et de dissémination de l'antigène microbien dans l'économie et non pas de l'extension à tout l'organisme d'une immunité localement acquise.

Vu, le Doyen,
H. ROGER

Vu, le Président
P. TEISSIER

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris
APPELL

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
DIVISION DU SUJET.....	17
 CHAPITRE PREMIER. — CONDITIONS GÉNÉRALES DE RÉCEPTIVITÉ DE LA PEAU VIS-A-VIS DE DIFFÉRENTES INFECTIONS CHEZ LE LAPIN ET LE COBAYE	
Aspect des réactions locales de la peau. Mode d'inoculation des cultures.....	20
Etat non réceptif de la peau épilée plusieurs jours avant l'inoculation.....	25
Examen histologique de la peau prélevée immédiatement et un certain temps après l'épilation.....	30
Examen histologique de la peau infectée par inoculation superficielle.....	33
Rôle de l'épilation dans l'infection streptococcique de la peau par la voie intradermique.....	37
Rôle de l'épilation dans différentes infections cutanées.	40
Rôle de la sensibilisation cutanée dans l'infection vaccinale.....	42
Conclusions.....	48
 CHAPITRE II. — INFECTION PASTEURELLIENNE EXPÉRIMENTALE DE LA PEAU CHEZ LE COBAYE. IMMUNISATION PAR LA VOIE CUTANÉE	
La lésion locale. Ses modalités. Rareté de l'infection générale consécutive	50
L'immunité consécutive aux inoculations cutanées.....	53
Immunisation de la peau par immunisation générale...	56
Conclusions.....	59
 CHAPITRE III. — INFECTION STREPTOCOCCIQUE EXPÉRIMENTALE DE LA PEAU CHEZ LE LAPIN. ESSAIS D'IMMUNISATION PAR LA VOIE CUTANÉE.....	
L'infection streptococcique cutanée expérimentale chez le lapin.....	64
Variabilité du pouvoir pathogène des streptocoques vis-à-vis de la peau du lapin.....	65
	68

L'adaptation du germe à l'animal et la réaction cutanée.	71
Essai d'immunisation antistreptococcique du lapin par inoculations cutanées.	74
Action de la vaccination antistreptococcique par voie générale sur la réceptivité de la peau. L'allergie streptococcique.	86
Recherche de l'action immunisante des filtrats de cultures de streptocoques par voie cutanée.	92
La vaccination antistreptococcique : Comparaison des données de l'expérimentation et de la clinique.	108
CHAPITRE IV. — RÔLE DE LA PEAU DANS L'INFECTION CHARBONNEUSE DU COBAYE. L'IMMUNITÉ ANTICARBONNEUSE NE PEUT ÊTRE UNE IMMUNITÉ LOCALE.	
Résumé des travaux antérieurs.	112
Recherches sur l'infection charbonneuse du cobaye par la voie cutanée. Réceptivité de la peau.	130
Lésions histologiques de la peau infectée par le charbon.	135
Essais d'immunisation par voie cutanée avec le virus charbonneux non atténué.	143
Infection charbonneuse du cobaye par voie intracardiacque ou intravineuse.	145
Sensibilité générale du cobaye à l'infection charbonneuse. La cuti-immunité envisagée comme immunité générale.	153
Essai d'interprétation du mécanisme de l'infection charbonneuse et de l'immunisation par la voie cutanée.	157
Conclusions.	164
CHAPITRE V. — ESSAIS D'IMMUNISATION PAR VOIE CUTANÉE VIS-A-VIS DE QUELQUES AUTRES GERMES : BACILLE DIPHTÉRIQUE, BACILLE PARATYPHIQUE B, BACILLE DE DUCREY.	
Essai d'immunisation du cobaye contre le bacille diphtérique par la voie cutanée.	166
Infection de la peau par le bacille paratyphique B chez le cobaye. Immunisation comparée par voie cutanée et par voie générale.	169
Essais d'immunisation du singe contre le bacille de Durey comparativement par voie cutanée et voie générale.	179
CHAPITRE VI. — IMMUNISATION PAR LA VOIE CUTANÉE. IMMUNISATION GÉNÉRALE ET IMMUNITÉ DE LA PEAU.	
L'infection par voie cutanée. Caractère banal de la réaction locale.	189

Immunisation générale de l'animal par infection cutanée.....	193
Absence d'immunité locale autonome de la peau à la suite de l'infection cutanée.....	196
Immunisation cutanée locale parcellaire à l'aide des fil-trats de culture.....	200
Immunisation générale par application cutanée de cul-tures tuées.....	202
Nature de l'immunité obtenue par la voie cutanée. La question des anticorps.....	206
Genèse de l'immunité obtenue par la voie cutanée. Du rôle probable de la peau dans l'infection et l'immu-nisation.....	211
Aperçu général sur l'immunité locale.....	216
La notion d'immunité locale appliquée à la peau.....	223
CONCLUSIONS.....	229